3 Beiheft
zum
Jahrbuch der Hamburgischen Wissenschaftlichen Anstalten.
XXXVI. 1918.

Mitteilungen

aus dem

Institut für allgemeine Botanik in Hamburg.

4. Band.

Inhalt:

In Kommission bei
Otto Meissners Verlag
Hamburg 1919.



Beiheft
zum
Jahrbuch der Hamburgischen Wissenschaftlichen Anstalten.
XXXVI. 1918.

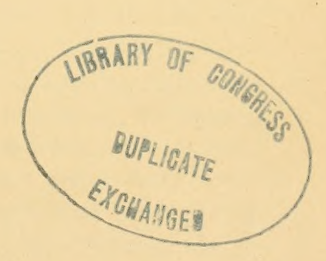
Mitteilungen

aus dem

Institut für allgemeine Botanik in Hamburg.

4. Band.

Inhalt:



In Kommission bei
Otto Meissners Verlag
Hamburg 1919.

Bibliographie des Geotropismus.

1918 und Nachträge II.

Von *Marie Christiansen.*

Die mit einem Stern versehenen Arbeiten konnten im Original nicht eingesehen werden.
Die in eckigen Klammern stehenden Einfügungen sind Eigenzusätze.

1918.

1037. 1. **Engler**, Arnold. Tropismen und exzentrisches Dickenwachstum der Bäume. Ein Beitrag zur Physiologie und Morphologie der Holzgewächse. Preisschrift, herausgegeben durch die Stiftung von Schnyder von Wartensee. Zürich 1918, Beer & Co., 4°, 106 S., 14 Figuren auf Kunstdruckpapier, 16 Textfiguren und 43 Tabellen.
[Das Vorwort wurde im April 1918 geschrieben.]

1038. 2. **Haberlandt**, G. Physiologische Pflanzenanatomie. 5. Aufl. Leipzig 1918, W. Engelmann, 8°, XVI und 670 S., 295 Textabb.
[12. Abschnitt. Die Sinnesorgane. III. Die Sinnesorgane für den Schwerkraftreiz. S. 555—570, Fig. 251—256. — Die 1. Aufl. 1884 und die 2. Aufl. 1896 enthalten nichts über die Statolithentheorie. — 3. Aufl. siehe 1904, Nr. 9. — 4. Aufl. siehe 1909, Nr. 13.]

1039. 3. **Heinricher**, E. Die Bedingungen, unter denen durch den Parasitismus der Zwergmistel (Arceuthobium oxycedri) auf Juniperus Hexenbesen entstehen können. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten, Bd. 28, 1918, S. 193—200, Taf. I—III.
[Die Arbeit wurde abgeschlossen im April 1918. — S. 194 ff.: über den Geotropismus der Hexenbesen.]

1040. 4. **Kanda**, Sakyo. Further studies on the geotropism of Paramecium caudatum. Biological Bulletin of the Marine Biological Laboratory Woods Hole, Mass., Vol. 34, 1918, p. 108—119, 2 Fig.

1041. 5. **Lundegårdh**, Henrik. Das geotropische Verhalten der Seitensprosse, zugleich ein Beitrag zum Epinastieproblem und zur kausalen Morphologie. Lunds Universitets Årsskrift, N. F. Avd. 2, Bd. 14, Nr. 27, 1918, 93 S., 16 Textfig.
[Der K. Physiographischen Gesellschaft am 12. Dezember 1917 vorgelegt.]

1042. 6. **Lundegårdh**, Henrik. Über Beziehungen zwischen Reizgröße und Reaktion bei der geotropischen Bewegung und über den Autotropismus. Botaniska Notiser för år 1918, S. 65—118, 13 Textfig.
[Die Arbeit wurde abgeschlossen im Dezember 1917.]

1043. 7. **Lyon**, E. P. Note on the geotropism of Paramecium. Biological Bulletin of the Marine Biological Laboratory Woods Hole, Mass., Vol. 34, 1918, p. 120.

1044. 8. **Möbius**, M. Über Orientierungsbewegungen von Knospen, Blüten und Früchten. Flora, Bd. 111/112 (N. F. Bd. 11/12), 1918, Festschrift Stahl, S. 396—417, 11 Textabb.

1045. 9. **Pütter**, August. Studien zur Theorie der Reizvorgänge. I.—IV. Mitteilung. Pflügers Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere, Bd. 171, 1918, S. 201—261, 7 Textfig.

1046. 10. **de Vries**, Hugo. Opera e Periodicis collata. Vol. I. Utrecht 1918, A. Oosthoek, 8°, 630 p., 1 Bildnis. — Vol. II. Utrecht 1918, A. Oosthoek, 8°, 566 p., mit Tafeln und Textabbildungen.

[Die für den Geotropismus in Betracht kommenden Arbeiten siehe bei 1872, Nr. 6. Nr. 7. — 1873, Nr. 7. Nr. 8. — 1874, Nr. 10. — 1877, Nr. 12. — 1879, Nr. 9. Nr. 10. — 1880, Nr. 14. Nr. 15.]

1047. 11. **Warming**, Eug. Om Jordudløbere. (Underground runners.) Det Kgl. Danske Videnskabernes Selskabs Skrifter, naturvid. og math. Afdeling, 8. Rœkke, Bd. 2, 1918, p. 295—378, 43 Fig.

[p. 367—373: Englische Zusammenfassung.]

1048. 12. **Zollikofer**, Clara. Über das geotropische Verhalten entstärkter Keimpflanzen und den Abbau der Stärke in Gramineen-Koleoptilen. (Vorläufige Mitteilung.) Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, Bd. 36, 1918, S. 30—38.

[Die Arbeit ist eingegangen am 22. Januar 1918. — Die ausführliche Abhandlung siehe 1918, Nr. 13.]

1049. 13. **Zollikofer**, Clara. Untersuchungen zur Statolithentheorie. 1. Teil: Über das geotropische Verhalten entstärkter Keimstengel und den Abbau der Stärke in Gramineen-Koleoptilen. Beiträge zur allgemeinen Botanik, Bd. 1, Heft 4, 1918, S. 399—448.

[Die Arbeit ist auch als Dissertation erschienen. Berlin 1918, 8°, 50 S. — Vorläufige Mitteilung siehe 1918, Nr. 12. — Den 2. Teil der Arbeit siehe 1918, Nr. 14.]

1050. 14. **Zollikofer**, Clara. Untersuchungen zur Statolithentheorie. 2. Teil: Über die Wirkung der Schwerkraft auf die Plasmaviskosität. Beiträge zur allgemeinen Botanik, Bd. 1, Heft 4, 1918, S. 449—500, 18 Textfig.

[Die Arbeit wurde abgeschlossen im September 1917. — Vorläufige Mitteilung siehe 1917, Nr. 20. — Den 1. Teil der Arbeit siehe 1918, Nr. 13.]

Nachträge II.

1800.

1051. 3. **Senebier**, Jean. Physiologie végétale. Tome IV. Genève, chez J. J. Paschoud, an 8 [= 1800], 8°, 435 p.
[De la direction des tiges et des racines. p. 216—228.]

1822.

1052. 1. **Dutrochet**, [H.] Des Directions spéciales qu'affectent certaines parties des végétaux. Extrait. Journal de Physique, de Chimie, d'Histoire naturelle et des Arts, Tome 94, Janvier—Juin 1822, p. 94—96.

1053. 2. **Dutrochet**, [H.] De l'Influence du mouvement sur les directions spéciales qu'affectent certaines parties des végétaux. Extrait. Journal de Physique, de Chimie, d'Histoire naturelle et des Arts, Tome 95, Juillet—Décembre 1822, p. 59—61.

1845.

1054. 4. **Dutrochet**, [H.] Note sur les tiges qui descendent vers la terre comme des racines. Comptes rendus de l'Académie des Sciences, Paris, Tome 21, 1845, p. 1186—1188.
[Einen Abdruck der Arbeit siehe 1846, Nr. 1.]

1846.

1055. 2. Sur la direction des tiges. (Extrait d'une Lettre de M. **Durand**, professeur à l'École de Médecine de Caen, à M. Dutrochet. Comptes rendus de l'Académie des Sciences, Paris, Tome 22, 1846, p. 552—554.

1857.

1056. 2. **Payer**, J.-B. Éléments de Botanique. 1. Partie. Organographie. Paris 1857, 8°, XII et 276 p., 664 fig. dans le texte.
[Tendance des tiges vers le ciel et des racines vers la terre. p. 23.]

1872.

Zusatz zu 1872, Nr. 6. **de Vries**, H. Über einige Ursachen der Richtung bilateral-symmetrischer Pflanzentheile. Arbeiten des botanischen Instituts in Würzburg, Bd. 1, 1874, Heft 2, 1872, S. 223—277.
[Die Arbeit ist wiederabgedruckt in Hugo de Vries Opera e Periodicis collata, Vol. I, Utrecht 1918, p. 137—199. Siehe 1918, Nr. 10.]

1057. *7. **de Vries**, Hugo. Over de bewegingen van ranken en slingerplanten. Maandblad voor Natuurwetenschappen, III, 1872, Nr. 3.
[Die Arbeit ist wiederabgedruckt in Hugo de Vries Opera e Periodicis collata, Vol. I, Utrecht 1918, p. 200—206. Siehe 1918, Nr. 10.]

1873.

Zusatz zu 1873, Nr. 7. **de Vries**, H. Zur Mechanik der Bewegungen von Schlingpflanzen. Arbeiten des botanischen Instituts in Würzburg, Bd. 1, 1874, Heft 3, 1873, S. 317—342.

[Die Arbeit ist wiederabgedruckt in Hugo de Vries Opera e Periodicis collata, Vol. I, Utrecht 1918, p. 224—252. Siehe 1918, Nr. 10.]

Zusatz zu 1873, Nr. 8. **de Vries**, H. Die vitalistische Theorie und der Transversal-Geotropismus. Flora, Jahrg. 56, 1873, S. 305—315.

[Die Arbeit wurde abgeschlossen im März 1873. — Sie ist wiederabgedruckt in Hugo de Vries Opera e Periodicis collata, Vol. I, Utrecht 1918, p. 260—270. Siehe 1918, Nr. 10.]

1874.

1058. 9. **Fankhauser**, J. Einfluß mechanischer Kräfte auf das Wachsthum durch Intussusception bei Pflanzen. Mittheilungen der naturforschenden Gesellschaft in Bern aus dem Jahre 1874, S. 170—255, 1 Taf.

[S. 247—251: Einwirkung der Schwere auf das Wachsthum.]

1059. 10. **de Vries**, Hugo. Die Resultate der neuesten Forschungen über das Längenwachsthum der Pflanzen. Landwirthschaftliche Jahrbücher, Bd. 3, 1874, S. 627—657.

[Über die Wirkung der Schwere auf sich streckende Pflanzenteile. S. 646—651. — Die Arbeit ist wiederabgedruckt in Hugo de Vries Opera e Periodicis collata, Vol. I, Utrecht 1918, p. 302—341. Siehe 1918, Nr. 10.]

1877.

Zusatz zu 1877, Nr. 12. [in den Nachträgen I.] **de Vries**, Hugo. Über longitudinale Epinastie. Flora, 60. Jahrgang, 1877, S. 385—391.

[Die Arbeit ist wiederabgedruckt in Hugo de Vries Opera e Periodicis collata, Vol. I, Utrecht 1918, p. 351—356. Siehe 1918, Nr. 10. — Siehe auch 1872, Nr. 6 und 1877, Nr. 5 und Nr. 11.]

1878.

1060. 7. **Hackel**, E. Die Lebenserscheinungen unserer Gräser. Separat-Abdruck aus dem 15. Jahresberichte der n. ö. Landes-Oberrealschule zu St. Pölten, St. Pölten 1878, Verlag des Verfassers, 8°, 25 S.

[Die Arbeit wurde abgeschlossen im Juni 1878. — S. 5—6: Über den negativen Geotropismus der Scheidenknoten.]

1879.

Zusatz zu 1879, Nr. 9. **de Vries**, H. Über die inneren Vorgänge bei den Wachsthumskrümmungen mehr-

zelliger Organe. Vorläufige Mittheilung. Botanische Zeitung, 37. Jahrg., 1879, Sp. 830—838.

[Die Arbeit ist wiederabgedruckt in Hugo de Vries Opera e Periodicis collata, Vol. I, Utrecht 1918, p. 503—510. Siehe 1918, Nr. 10. — Die ausführliche Arbeit siehe 1880, Nr. 14.]

Zusatz zu 1879, Nr. 10. **de Vries**, H. Über die Ursache der Krümmungen während des Wachsthums. Sitzungsberichte der Königl. Akademie der Wissenschaften in Amsterdam. Mittheilung in der Sitzung vom 29. Nov. 1879.

[Kurze Inhaltsangabe in Just's Botan. Jahresbericht, 7. Jahrg. (1879), 1. Abth., S. 237. — Die Arbeit ist wiederabgedruckt in Hugo de Vries Opera e Periodicis collata, Vol. I, Utrecht 1918, p. 517—518. Der holländische Titel ist: Over de oorzaken van krommingen bij den groei van plantendeelen. Siehe 1918, Nr. 10. — Die ausführliche Arbeit siehe 1880, Nr. 14.]

1880.

Zusatz zu 1880, Nr. 14. **de Vries**, H. Over de bewegingen der ranken van Sicyos. Verslagen en Mededeelingen der K. Akademie van Wetenschappen te Amsterdam, Afdeel. Natuurkunde, 2. Reeks, 15. Deel, 1880, p. 51—174.

[Die Arbeit ist wiederabgedruckt in Hugo de Vries Opera e Periodicis collata, Vol. I, Utrecht 1918, p. 519—630. Siehe 1918, Nr. 10. — Vorläufige Mitteilungen siehe 1879, Nr. 9 und Nr. 10.]

Zusatz zu 1880, Nr. 15. **de Vries**, H. Sur les causes des mouvements auxotoniques des organes végétaux. Archives néerlandaises des Sciences exactes et naturelles, Tome 15, 1880, p. 295—312.

[Die Arbeit ist wiederabgedruckt in Hugo de Vries Opera e Periodicis collata, Vol. II, Utrecht 1918, p. 85—99. Siehe 1918, Nr. 10.]

1881.

1061. 17. **Klebs**, Georg. Über Form und Wesen der pflanzlichen Protoplasmabewegung. Biologisches Centralblatt, Bd. I, 1881—82, S. 481—491, 513—524, 577—591.

[S. 521: Über den Einfluß der Schwere auf Protoplasmabewegungen.]

1883.

1062. 9. **Barthélemy**, A. Du mouvement des plantes dans Lamarck, Darwin et leurs successeurs. Mémoires de l'Académie des Sciences, Inscriptions et Belles-Lettres de Toulouse, 8. Série, Tome 5, 1883, 2. Semestre, p. 148—174.

[Siehe 1880, Nr. 1.]

1063. 10. **Mer**, E. De l'influence de l'ombre et de la lumière sur la structure, l'orientation et la végétation des aiguilles d'Abies excelsa. Bulletin de la Société botanique de France, Tome 30, 1883, p. 40—50.

1885.

1064. 14. **Klebs**, Georg. Über Bewegung und Schleimbildung der Desmidiaceen. Biologisches Centralblatt, Bd. 5, 1885—86, S. 353—367.
[S. 360—362: Der Einfluß der Schwerkraft auf die Bewegung.]

1893.

1065. 15. **Stone**, George E. The use of blue-print paper in recording root curvatures. The Botanical Gazette, Vol. 18, 1893, p. 28—29.

1895.

1066. 22. **Rothert**, W. Eine neue Theorie der Mechanik der Reizkrümmungen pflanzlicher Organe. (Kohl, F. G., Die Mechanik der Reizkrümmungen. 94 Seiten, 8°, mit 19 Textfiguren und 6 Tafeln. Marburg 1894.) Biologisches Centralblatt, Bd. 15, 1895, S. 593—602.
[Kritische Besprechung der Arbeit von Kohl, 1894, Nr. 6.]

1897.

1067. 17. **Bullot**, G. Sur la croissance et les courbures du Phycomyces nitens. Annales de la Société belge de Microscopie, Tome 21, 1897, p. 69—93, pl. III.
[Die Arbeit wurde abgeschlossen am 12. August 1896.]

1899.

1068. 21. **Münzberg**, A. Über den Einfluß des Geotropismus auf die Wuchsrichtung des Schaftes der Waldbäume. Oesterreichische Forst- und Jagd-Zeitung, 17. Jahrgang, 1899, S. 164, Abb. 124—128.
[Siehe auch 1899, Nr. 23 und 1902, Nr. 23.]

1069. 22. **Platt**, Julia B. On the Specific Gravity of Spirostomum, Paramœcium, and the Tadpole in Relation to the Problem of Geotaxis. The American Naturalist, Vol. 33, 1899, p. 31—38.

1070. 23. **R.**, J. Heliotropismus contra Geotropismus. Oesterreichische Forst- und Jagd-Zeitung, 17. Jahrgang, 1899, S. 347, Abb. 255, 256.
[Siehe auch Münzberg, 1899, Nr. 21 und 1902, Nr. 23.]

1902.

1071. 23. **Münzberg**, A. Warum erwachsen unsere Waldbäume vertical? Oesterreichische Forst- und Jagd-Zeitung, 20. Jahrgang, 1902, S. 35—36, Abb. 30—32.
[Siehe auch 1899, Nr. 21 und Nr. 23.]

1903.

1072. 30. **Fitting**, Hans. Untersuchungen über den Haptotropismus der Ranken. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, Bd. 38, 1903, S. 545—634, 7 Textfig.
[Über den Wert der haptotropen Krümmungen zur Beurteilung der tropistischen Reizvorgänge. S. 616 ff.]

1073. 31. **Ostwald**, Wolfgang. Zur Theorie der Richtungsbewegungen schwimmender niederer Organismen. Archiv für die gesammte Physiologie des Menschen und der Thiere, Bd. 95, 1903, S. 23—65, 9 Textfig.
[Zur Theorie des Geotropismus. S. 60—64. — Den zweiten Teil der Arbeit siehe 1906, Nr. 24.]

1904.

1074. 39. **Jennings**, Herbert S. Contributions to the Study of the Behavior of Lower Organisms. Carnegie Institution of Washington, Publication Nr. 16. Washington 1904, 8°, 256 p., 81 fig.
[IV. The Theory of Tropisms. p. 89—107. (p. 100: Reactions to Gravity.)]

1075. 40. **Wiedersheim**, Walther. Studien über photonastische und thermonastische Bewegungen. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, Bd. 40, 1904, S. 230—278, 20 Textfig.
[Klinostatenversuche. S. 256—257.]

1905.

1076. *38. **Lyon**, E. P. On Jensen's Theory of Geotropism in Paramœcium. American Journal of Physiology, Vol. 13, 1905, p. XV—XVI.

1906.

1077. 35. **Wiesner**, J. Beobachtungen über den Lichtgenuß und über einige andere physiologische Verhältnisse blühender Geranium-Arten. Sitzungsberichte der kais. Akademie der Wissenschaften, Wien, math.-naturwiss. Klasse, Bd. 115, Abt. 1, 1906, S. 387—416.
[IV. Richtungsbewegungen der Blüten von Geranium pratense und einiger anderer Geranium-Arten. S. 402—416.]

1907.

1078. 27. **Mast**, S. O. Light reactions in lower organisms. II. Volvox globator. The Journal of comparative Neurology and Psychology, Vol. 17, 1907, p. 99—180, 15 fig.
[p. 122—128: Effect of Gravitation on Orientation.]

1908.

1079. 27. **Przibram**, Hans. Die Biologische Versuchsanstalt in Wien. Zeitschrift für biologische Technik und Methodik,

Bd. I, 1908/09/10, S. 234—264, 329—362, 409—433, Ergänzungsheft S. 1—34, mit 8 Textfig., Plänen und Photographien.
[S. 259—261, Fig. 6: Beschreibung des Motor-Klinostaten nach Figdor und v. Portheim.]

1080. 28. **Tubeuf**, C. von. Viscum cruciatum Sieb., die rotbeerige Mistel. Naturwissenschaftliche Zeitschrift für Forst- und Landwirtschaft, 6. Jahrgang, 1908, S. 407—414, 497—509, 6 Abb.
[S. 505—508, Fig. 6: Über die Wirkung von Heliotropismus, Geotropismus, Thermotropismus auf die Wachstumskrümmung des Würzelchens usw.]

1910.

1081. 43. **Wager**, Harold. The Effect of Gravity upon the Movements and Aggregation of Euglena viridis, Ehrb., and other Micro-organisms. (Abstract.) Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Vol. 83, 1910/11, Nr. 562, Dec. 19, 1910, p. 94—96.
[Eingegangen am 2. August und vorgetragen am 17. November 1910. — Siehe auch 1910, Nr. 41.]

1911.

1082. 28. **Halsted**, B. D. A Study of the Influence of Interrupted Gravitation Upon the Hypocotyl. 32nd annual report of the New Jersey State Agricultural Experiment Station and the 24th annual report of the New Jersey Agricultural College Experiment Station for the year ending October 31st, 1911, p. 372.

1083. *29. **Harper**, E. H. The Geotropism of Paramœcium. Journal of Morphology, Vol. 22, 1911, p. 993—1000.

1912.

1084. 28. **Combes**, Raoul. Sur les lignes verticales dessinées par le Chlorella vulgaris contre les parois des flacons de culture. Bulletin de la Société botanique de France, Tome 59, 1912, p. 395—403, 510—515, 551—554, pl. X.

1085. *29. **Harper**, E. H. Magnetic Control of Geotropism in Paramœcium. Journal of Animal Behavior, Vol. 2, 1912, p. 181—189.

1086. 30. **Hiley**, W. E. The Values of different Degrees of Centrifugal Force on Geotropic Stimuli. Report of the 82nd meeting of the British Association for the Advancement of Science, held at Dundee in September 1912, London 1913, p. 681—682.
[Die ausführliche Arbeit siehe 1913, Nr. 15.]

1913.

1087. 39. **Faber**, F. C. von. Biophytum apodiscias, eine neue sensitive Pflanze auf Java. (Vorläufige Mitteilung.) Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, Bd. 31, 1913, S. 282—285.

[Abgeschlossen im April 1913 und eingegangen am 2. Juni 1913. — S. 283: Über den Einfluß der Schwerkraft auf die Schlafbewegung.]

1088. 40. **Halsted**, B. D. Rise of the zone of geotropic response in seedlings. 34th annual report of the New Jersey State Agricultural Experiment Station and the 26th annual report of the New Jersey Agricultural College Experiment Station for the year ending October 31st, 1913, p. 607—609.

1089. 41. **Tröndle**, A. Über die Verteilung der geotropischen Sensibilität und der geotropischen Reaktionsgeschwindigkeit in der Coleoptile. Berichte der Naturforschenden Gesellschaft zu Freiburg i. Br., Bd. 20, 1913/14, S. I—III.

[Die ausführliche Arbeit siehe 1913, Nr. 36.]

1090. 22. **Kanda**, Sakyo. On the Geotropism of Paramecium and Spirostomum. Biological Bulletin of the Marine Biological Laboratory Woods Hole, Mass., Vol. 26, 1914, p. 1—24, 1 fig.

1914.

1091. 23. **Schmidt**, Heinrich. Beiträge zur Keimungsgeschichte von Tragopogon floccosus und einigen anderen Cichorieen. Dissertation von Kiel. Heide i. Holst. 1914. 8°, 50 S., 1 Taf., 47 Textfig.

[S. 27—40: geotropische Krümmungen bei verschiedener Lage der keimenden Frucht zum Horizont.]

1915.

1092. 23. **Sperlich**, Adolf. Gesetzmäßigkeiten im kompensierenden Verhalten parallel und gegensinnig wirkender Licht- und Massenimpulse. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, Bd. 56, 1915, S. 155—196, 7 Textfig.

[Die Arbeit wurde abgeschlossen im August 1914.]

1917.

1093. 21. **Ameijden**, U. P. van. Geotropism and Phototropism in the absence of free oxygen. Recueil des Travaux botaniques néerlandais, Vol. 14, 1917, p. 149—216, pl. XV—XIX, 1 fig. in the text.

[Siehe auch 1917, Nr. 1.]

1094. 22. **Dobrowolski**, J. M. Über den Einfluß der Blätter auf die Richtung der Internodien. Bulletin de l'Académie

des Sciences de Cracovie, Classe des Sciences math. et nat., Série B: Sciences nat., Janvier-Mars 1917, p. 25—53, pl. 3—5. [Die Arbeit wurde vorgelegt am 11. Dezember 1916. — p. 51: Überwindung des Einflusses des Blattes auf die Richtung des Internodiums durch Photo- und Geotropismus.]

1095. *23. **Loeb**, J. The chemical basis of regeneration and geotropism. Science, N. S. Vol. 46, 1917, p. 115—118.

1096. 24. **Weber**, Friedl. Die Viskosimetrie des lebenden Protoplasmas. Kolloid-Zeitschrift, Bd. 20, Heft 4, 1917, S. 169—173. [Die Arbeit ist eingegangen am 8. März 1917.]

Namenverzeichnis.

Die Schädlinge des Klippfisches.

Ein Beitrag zur Kenntnis der salzliebenden Organismen.

Von *H. Klebahn.*

Mit zwei Tafeln und vier Abbildungen im Text.

Die nachfolgende Darstellung ist der vorläufige Abschluß von Untersuchungen und Versuchen, die infolge einer Anregung von Seiten der Fischereidirektion in Hamburg in der Absicht unternommen wurden, die Pilze und Bakterien, welche den Klippfisch während seiner Zubereitung und Lagerung befallen, genauer kennenzulernen und Mittel zu ihrer Bekämpfung zu finden. Diese Organismen bilden seit vielen Jahren für die Fischindustrie und den Fischhandel eine große Plage, deren Herr zu werden trotz mannigfacher Bemühungen noch nicht gelungen ist. Meine Arbeiten, die im Sommer 1916 begonnen wurden, und namentlich die Versuche zur Bekämpfung des Übels erlitten durch den Fortfall der gesamten Fischeinfuhr im Jahre 1919 eine unerwünschte Unterbrechung und konnten bislang noch nicht wieder aufgenommen werden. Die wissenschaftliche Untersuchung hat aber zu einer Anzahl von Ergebnissen geführt, die, wenn sie auch keineswegs als abgeschlossen gelten können, doch eine vorläufige Zusammenfassung und Darstellung zulassen. Diese soll im folgenden zusammen mit einem geschichtlichen Überblick über die Kenntnis der Schädlinge gegeben werden.

Den Herren Fischereidirektor Duge (Hamburg), Dr. med. Duge (Cuxhaven), Geschäftsführer Klockau (Klippfischwerke Cuxhaven), Prof. Dr. B. Walter (Physikalisches Staatslaboratorium), Prof. Dr. W. Göhlich (Chemisches Staatslaboratorium) Prof. Dr. H. C. Plaut (Institut für Pilzforschung am Eppendorfer Krankenhaus), Dr. C. Schwarze (Institut für allgemeine Botanik), sowie der Verwaltung des Hygienischen Instituts, insbesondere den Herren Prof. Dr. W. P. Dunbar, Prof. Dr. J. Kister und Dr. O. Kammann, spreche ich für die mir gewährte wertvolle Förderung meiner Arbeit meinen wärmsten Dank aus.

Einige Bemerkungen über die Herstellung des Klippfisches seien vorausgeschickt. Die zur Verarbeitung kommenden Fische sind wesentlich *Gadus morrhua* (Kabeljau, Dorsch), *Gadus virens* (Blaufisch, Köhler), *Gadus pollachius* (Pollack) und *Brosmius brosme* (Lub). Nach Entfernung des Kopfes, der Eingeweide und Ausführung eines kunstgerechten Längsschnitts, der ein flaches Ausbreiten des einzelnen Tieres ermöglicht, werden die Fische gesalzen. Dies geschieht meist einfach so, daß man sie ab-

wechselnd mit genügend großen Kochsalzschichten zu großen Haufen aufgestapelt. Die fertig gesalzenen Fische, die in diesem Zustande längere Zeit gelagert und auch verschickt werden können (Salzfisch), werden später getrocknet. Nach dem ursprünglichen Verfahren, das in Norwegen noch üblich ist, trocknet man sie auf den Felsen an der Luft und in der Sonne (Klippfisch, Bergfisch). In neuerer Zeit führt man das Trocknen auch fabrikmäßig aus. Es gibt verschiedene patentierte Verfahren, welche die Anwendung künstlich getrockneter Luft gemeinsam haben. In Deutschland waren 1916 zwei Fabriken in Betrieb, eine in Geestemünde, die über 900 Frauen beschäftigte, und eine kleinere in Cuxhaven. Sie trockneten im wesentlichen aus Norwegen bezogenen Salzfisch. In Hamburg befand sich ein großes Salzfischlager, wo über 400 Frauen beschäftigt wurden. Der neu angekommene Fisch, der häufig bereits von den Schädlingen befallen ist, wird vor dem Trocknen erst noch in großen Holzwannen mit Wasser gebürstet und gewaschen und dann aufs neue mit Salz aufgestapelt. Wenn dadurch auch die Schädlinge zunächst entfernt zu sein scheinen, so leuchtet doch jedem Pilzkundigen ein, daß sie nur vorübergehend in ihrer Entwicklung gehemmt sein können. Da das Wasser nicht ständig erneuert wird, liegt sogar die Möglichkeit vor, daß die Keime nur um so gleichmäßiger über alle Fische verteilt werden. In der Tat treten denn auch nach längerem Lagern die Schädlinge in gleicher oder selbst in größerer Ausbreitung aufs neue wieder auf. Erst wenn der Fisch fertig getrocknet ist, kann die Gefahr als im wesentlichen überwunden gelten, aber auch nur so lange, als er trocken bleibt. Zieht er aus feuchter Luft wieder Wasser an, und das kommt sowohl bei erneutem Lagern wie bei der Verschickung mit Handelsschiffen leicht vor, so kann die Entwicklung der Schädlinge aufs neue einsetzen.

I. Torula epizoa.

Die eine Schädigung des Klippfisches beruht auf einem Pilz aus der Gruppe der Dematiaceen, der zuerst von Corda[1]) auf gesalzenem Fleisch beobachtet und als *Torula epizoa* beschrieben wurde (1829). Eine auf Anschovis und auf der durchsickernden Salzlake, worin dieser Fisch konserviert war, lebende Abart beschrieb später Kickx[2]) als var. *muriae* (1867). Die Verschiedenheit der beiden Formen erscheint zweifelhaft. Die Farbe der Hauptart wird als braun, die der Abart als erdgrau angegeben; in den Konidienketten der ersteren sollen sich von Strecke zu Strecke etwas größere

[1]) In Sturm, Deutschlands Flora II, 97, Taf. 45 (1829).

[2]) Recherches pour servir à la flore mycologique des Flandres, Cent. III, 44; Flore cryptog. des Flandres II, 299 (1867).

Konidien finden, die Konidien der Abart sollen ein wenig kleiner und unter sich gleich groß sein. Als Klippfischschädling scheint der Pilz erst nach 1880 Beachtung gefunden zu haben. Farlow[1]) beobachtete ihn zusammen mit andern Mikroorganismen auf rot gewordenem Klippfisch und beschrieb ihn zunächst als *Oidium pulvinatum*, später[2]), da sich herausstellte, daß dieser Name bereits vergeben war[3]), als *Oidium morrhuae*. Saccardo und Berlese[4]) erkannten den Pilz als *Torula* und nannten ihn *Torula pulvinata*[5]).

In der Folgezeit haben sich namentlich nordische Forscher mit der *Torula* beschäftigt. Gerade in den norwegischen Betrieben tritt dieser Pilz besonders häufig und schädigend auf. Armauer-Hansen[6]) soll schon 1883 gezeigt haben, daß das, was man dort damals „Milben“ (mid) auf Klippfisch nannte, eine Pilzvegetation sei.

O. Johan-Olsen[7]) unterschied im Jahre 1886 echte Milben, rote Milben und braune oder schwarze Milben. In den letztgenannten erkannte er einen Pilz, den er für neu hielt und dem norwegischen Fischereiinspektor F. M. Wallem zu Ehren, der Versuche zur Bekämpfung des Schädlings gemacht hatte und auch bereits von der Pilznatur desselben überzeugt war, *Wallemia ichthyophaga* nannte. Es handelt sich um *Torula epizoa*. Johan-Olsen gibt eine gute Beschreibung des Pilzes. Er machte auch Kulturen auf künstlichem Nährboden, und er erkannte die Bedeutung der Konidien für die Verbreitung des Schädlings. Als Gegenmaßregeln empfahl er Reinlichkeit und Desinfektion. Später soll er den Pilz auch auf Salzfleisch gefunden haben[8]).

Gleichzeitig machte Brunchorst[9]) Untersuchungen über den Pilz. Er sieht die Art der Keimung der Konidien, die in der Regel anschwellen

[1]) Maladies des morues sèches. Revue mycol. VI, 197 (1884).

[2]) Vegetable parasites on codfish. Bull. of the U. S. Fish Commission VI, 1 (1886). Vgl. Revue mycol. VII, 17, Fußnote (1885).

[3]) Es soll nach Farlow (Rev. myc. 1885) ein *Oidium pulvinatum* Berk. u. Curt. geben. Saccardo (Sylloge IV und folgende Bände) erwähnt nur das auf *Carya tomentosa* in Südkarolina lebende *Oidium pulvinatum* Cooke (in Grevillea), vgl. Ravenel, Americ. fungi, Nr. 770.

[4]) Miscellanea mycologica. Atti del R. istituto Veneto, ser. 6, vol. III (1885).

[5]) Dieser Name muß dem *Alysidium pulvinatum* Bonorden (Abh. Geb. Mycol. I, 86 [1864]), das auf Tannenholz lebt, verbleiben. Vgl. Saccardo, Syll. IV, 253 (1886).

[6]) Norsk fiskeritidende for 1883, S. 16. (Nicht gesehen.)

[7]) Om sop på klipfisk den såkaldte mid. Christiania Vidensk. Selsk. Forhandlinger 1887, Nr. 12 (Vortrag in der botan. Sektion der 13. nord. Naturf.-Versamml. am 10. Juli 1886). Vgl. auch Istvanffi, Bot. Centralbl. LVIII, 199 (1894).

[8]) Aftenposten, nach Gran 1909, s. unten.

[9]) Om klipfiskens mugsop. Norsk fiskeritidende for 1886, S. 136. Mere om klipfiskens mugsop (den saakaldte „mid“). Daselbst 1888, S. 65. Om klipfiskens mugsop, den saakaldte mid. Daselbst 1889, S. 226. Kritiske Bemerkninger om „Sop paa klipfisk“. Archiv for mathematik og naturvidenskap XIII, 97 (1890).

und Querwände nach allen Richtungen, aber keine Keimschläuche bilden, zwar als besonders eigentümlich an, hält sie aber für eine Folge der Anpassung an den Salzgehalt des Nährbodens und daher nicht für so wesentlich, daß sie eine besondere Stellung des Pilzes bedingt. Er findet, daß die Packhäuser außerordentlich reichliche Gelegenheit zur Infektion bieten, wenn auch nicht die einzige, und daß die Infektion des Fisches in der Regel beim Aufstapeln oder unmittelbar danach zustande kommt, nicht vorher, z. B. nicht schon auf den Trockenplätzen. Versuche, die er anstellte (s. 1889), sollen das beweisen. Er empfiehlt gleichfalls Desinfektion der in Frage kommenden Räume und Geräte. Wasserdampf gab, so wie er angewandt werden konnte, keine genügende Wirkung. Dagegen hatten Versuche mit schwefliger Säure günstigen Erfolg. Brunchorst schlägt daher vor, die Packräume nach voraufgehender Reinigung mit Wasser (ohne Soda und Seife) noch feucht durch Verbrennen von Schwefel zu desinfizieren (1889). Er stellte ferner fest, daß Borsäure, dem Salz zugesetzt, die Entwicklung des Pilzes hemmt oder (bei 10 % Zusatz) ganz verhindert. Es ist aber aus hygienischen Gründen nicht zulässig, diese Substanz auch in nur geringeren Mengen anzuwenden[1]). Die gleichen Umstände und auch der Preis sprechen gegen die Anwendung von benzoësaurem und sulfobenzoësaurem Natrium.

Auf die nur teilweise berechtigten Angriffe Brunchorsts gegen Johan-Olsen, bei denen es sich wesentlich um Prioritätsangelegenheiten handelt, und Johan-Olsens[2]) Rechtfertigung mag hier nur hingewiesen sein.

Die wesentlichste Kenntnis der *Torula epizoa*, namentlich die Kenntnis ihres Verhaltens im Klippfischbetrieb verdanken wir Kr. Høye, der sich in einer Reihe umfangreicher Arbeiten sehr eingehend mit dem Pilze beschäftigt[3]).

Es gelang Høye, die *Torula* auf verschiedenartigem Nährboden zu züchten. Sie wächst auf Klippfisch, auf Heringen, auf gesalzenem Fleisch. Klippfisch ist für Reinkulturen nicht der geeignetste Nährboden, da er sich

---

[1]) Vgl. Kister, Über Gesundheitsschädlichkeit der Borsäure als Konservierungsmittel für Nahrungsmittel. Zeitschrift für Hygiene XXXVII, 225 (1901).

[2]) Sop paa klipfisk, den saakaldte mid. Et tilsvar til hr. Brunchorst. Arch. for math. og naturvid. XIII, 104 (1890).

[3]) Høye, Kr., Undersøgelser over Klipfiskesoppen. Bergens Museums Aarbog 1901, Nr. 7; 1904, Nr. 9. Sop paa Klipfisk. Norsk fiskeritidende 1902, S. 723; 1903, S. 534. Om Aarsagerne til Sopdannelse paa Klipfisk og Midlerne herimod. Norsk fiskeritidende 1903, S. 603. Recherches sur la moisissure de Bacalao et quelques autres Microorganismes halophiles. Bergens Museums Aarbog 1906, Nr. 12. Untersuchungen über die Schimmelbildung des Bergfisches. Bergens Museums Aarbog 1908, Nr. 4. Undersøgelser over Klipfiskesoppen. Om Soppens Modstandevne mod lave Temperaturer. Norsk fiskeritidende XXXII, 1913, 406.

durch das Sterilisieren in einer für den Pilz nicht günstigen Weise verändert. Notwendig ist ein gewisser Salzgehalt; 10 % sind am günstigsten, der Pilz gedeiht aber auch noch auf mit Salz gesättigten Nährböden. Mischungen aus Gelatine mit Fischsuppe und Kochsalz sind wenig geeignet; 20 % Salz sollen die Gelatine flüssig halten. Als besonders günstig erwies sich Mehlbrei, aus 80 Teilen Weizenmehl, 100 Teilen Fischsuppe und 5 bis 30 %, am besten 10 %, Kochsalz zusammengesetzt. Derartige Nährböden eignen sich für die Herstellung von Reinkulturen und für den Nachweis der *Torula*-Keime namentlich deshalb, weil sie nur den wenig zahlreichen, einen hohen Salzgehalt liebenden oder ertragenden Organismen die Entwicklung gestatten.

Als wesentlichstes Ziel seiner Arbeit stellte sich Hoye die Aufgabe, die Bedingungen des Auftretens des Pilzes in den Klippfischbetrieben aufzuklären, um dadurch Mittel für die Bekämpfung des Übels zu finden. Nachdem durch Auffinden geeigneter Nährböden die Möglichkeit gegeben war, die *Torula*-Keime bequem und unter Ausschluß der gewöhnlichen Saprophyten zur Entwicklung zu bringen, wurden Klippfische verschiedenen Ursprungs und verschiedener Bearbeitungsweise, ferner die Pack- und Lagerräume, die Schiffe, die Trockenplätze, die Luft auf den Schiffen und in der Umgebung der Arbeitsräume, die Gerätschaften, die zum Salzen üblichen Salzsorten in zahlreichen Proben einer Untersuchung auf Pilzkeime unterzogen. Es ergab sich, daß der befallene Fisch selbst die wesentlichste Quelle der Infektion ist. Von ihm her gelangen die Keime in die Luft der Umgebung, in den Staub der Schiffe und der Speicher, auf die Trockenplätze, an die Gerätschaften und zuletzt und vor allem in das Salz. Das übliche trockene Abbürsten befallener Fische trägt stark zur Verbreitung der Keime bei. Die Trockenplätze sind während des Winters praktisch frei von Keimen, im Herbst aber oft stark infiziert. An den Wänden der Speicher wurden auf dem Quadratmeter bis zu einer Million Keime gefunden. Als der wesentliche Träger und Überträger des Pilzes erscheint aber das Salz. An den Herstellungsstätten zwar ist es pilzfrei oder fast pilzfrei. Beim Versenden in infizierten Schiffen oder beim Lagern in infizierten Speichern aber wird es infiziert, der Keimgehalt kann bis auf 35 000 im Kilo und höher steigen. Auch eine Vermehrung der Keime im Salz erscheint möglich, wenn in den Speichern organischer Staub, z. B. Mehlstaub, der tatsächlich nachgewiesen ist, auf das Salz niederfällt.

Die Hauptinfektion des Fisches findet durch das Salzen statt. Die Herkunft und die Art des verwendeten Salzes sowie die verschiedene Hygroskopizität der Sorten sind dabei ohne Einfluß. Entscheidend sind dagegen der Keimgehalt und die Bedingungen, welche die erste Entwicklung der Keime fördern oder hemmen. Je zeitiger der Pilz auf den Fisch kommt, und je weiter er sich gleich anfangs entwickeln kann,

desto stärker ist der spätere Befall; die ersten zwei bis drei Wochen sind die kritische Zeit. Die Art der Behandlung, stärkeres oder schwächeres Pressen, der Grad der erreichten Trockenheit sind nach Høye, im Gegensatz zu den von Gran (s. unten) vertretenen Anschauungen, ohne wesentlichen Einfluß. Scharfes Trocknen hemmt zwar die Entwicklung; bei einem Wassergehalt des Fisches von weniger als 30 % vermag der Pilz nicht mehr zu wachsen. Aber so weit bringt man den Wassergehalt nicht hinunter, nur kleine Fische erreichen 34 %, große nur 40 %, und bei einem Wassergehalt von 36 bis 40 % wächst der Pilz gut. Auch niedere Temperatur schützt nur, solange sie andauert; vorübergehende Abkühlung auf — 19° wird ohne Schaden ertragen.

Auf Grund dieser Erfahrungen sieht Høye in der Desinfektion das einzige Mittel, dem Übel entgegenzutreten. Alle Räume, in denen Fische und namentlich auch das Salz verschickt, gelagert oder bearbeitet werden, alle Geräte, mit denen sie in Berührung kommen, müssen desinfiziert werden; das Salz soll möglichst direkt aus dem Schiff, mit dem es ankommt, zur Verwendung gelangen. Zur Desinfektion ist außer gehörigem Reinigen und Waschen, wenn die Räume abdichtbar sind, die Verbrennung von Schwefel (30 g auf 1 cbm), sonst Waschen mit formaldehydhaltigem Wasser (1 bis 2 % der 40prozentigen Lösung) geeignet. Versuche im großen haben die Brauchbarkeit dieses Verfahrens ergeben; es gelang, die Zahl der Keime auf dem Fisch auf 1/100 und selbst auf 1/500 zurückzubringen. Aber die Praxis ist schwerfällig in der Einführung derartiger Neuerungen.

Außer *Torula epizoa* erwähnt Høye noch ein paar mehr oder weniger ähnliche Pilzvegetationen auf dem Klippfisch. Was er Tangsop a und Tangsop b nennt, scheint mit *Torula epizoa* identisch zu sein. Dagegen ist *Torula pulvinata* anscheinend verschieden. Sie ist gleichfalls salzliebend, gedeiht noch auf Nährböden, die 30 % Kochsalz enthalten, ist aber für den Fisch ohne Bedeutung und nicht näher untersucht worden.

Etwas später als Høye begann auch Gran[1]) Untersuchungen und Versuche zur Bekämpfung des Klippfischpilzes. Gran hält es für ausgeschlossen, durch Desinfektion den Pilz erfolgreich zu bekämpfen; er glaubt aber, daß die Art der Behandlung des Fisches bei der Bearbeitung einen Einfluß auf das Gedeihen des Pilzes habe, und hofft, damit ihm entgegentreten zu können. Mit Hilfe bedeutender, von der norwegischen Fischereiverwaltung zur Verfügung gestellter Mittel ließ er fünf große Posten Fisch, jeder 6000 bis 7000 Kilo enthaltend, verschieden bearbeiten und verglich dabei geschlachteten und nicht geschlachteten, tiefgespaltenen und flachgespaltenen, vor dem Salzen gewaschenen und nicht gewaschenen,

[1]) „Undersøgelser over klipfiskens mugsop" im Bericht der Norwegischen Fischereiverwaltung (Norges fiskeristyrelse) in Aarsberetning vedkommende Norges fiskerier for 1903, S. 36. Bergen 1904.

im Stapel und in der Lake gesalzenen, stark gepreßten und schwach gepreßten Fisch hinsichtlich des späteren Auftretens der *Torula*. Die beiden Posten A und E, die hernach den niedrigsten Feuchtigkeitsgehalt (37,5 bis 38,3 %) und den höchsten Salzgehalt (21,5 %) hatten, blieben pilzfrei oder fast pilzfrei, der Posten D mit dem höchsten Wassergehalt (42,6 %) und dem niedrigsten Salzgehalt (18,4 %) war teilweise befallen (havde ikke saa faa fisk befængte ved sop). Gran hält den Zusammenhang zwischen Behandlung und Pilzentwicklung für bewiesen: je sorgfältiger der Fisch getrocknet und je trockener und kühler er gelagert wird, desto schwieriger kommt der Pilz ins Wachsen.

Høye[1]) unterzieht die Versuche Grans einer scharfen Kritik. Er vermißt eine exakte Grundlage, insofern keine Feststellung darüber gemacht sei, inwieweit die Fische während der Bearbeitung der Zufuhr von Pilzkeimen ausgesetzt gewesen seien. Das keineswegs bewiesene Ergebnis, daß gut behandelte Fische sich besser halten, sei längst bekannt und hätte des kostspieligen Versuchs nicht bedurft. In bezug auf Grans Urteil über den Posten D scheint übrigens Høye ein Irrtum widerfahren zu sein, den Gran[2]) später richtig stellt.

In der Folgezeit kommt Gran[3]) noch einmal auf seine Versuche und die Eigentümlichkeiten des Klippfischpilzes zurück. Er hebt besonders das eigentümliche Vermögen des Pilzes, auf starker und selbst auf gesättigter Salzlösung zu wachsen und einen entsprechend hohen osmotischen Druck in seinen Zellen zu entwickeln, hervor und bespricht die Bedingungen des Wachstums und der Ernährung desselben. Der Pilz wächst zwischen 5° und 37°, am besten bei 25° C. Er gedeiht am besten in Nährböden mit 10 % Kochsalz, wächst aber noch auf Fisch, auf dem das Salz auskristallisiert; doch ist ein gewisser Feuchtigkeitsgehalt des Fisches und der Luft notwendig. Stickstoffreiche Nährböden mit höheren Stickstoffverbindungen, wie Fischsuppe, Eiweiß, auch Pepton, sind für die Ernährung des Pilzes geeignet; ein Zusatz von Glyzerin oder Zucker kann dann günstig wirken, ist aber nicht erforderlich. Asparagin, Ammoniaksalze oder Nitrate sind als Stickstoffquellen ungeeignet. Die Arbeit Grans bringt auch einen Bericht über die Veränderungen, die der Fisch nach Untersuchungen von Schmidt-Nielsen beim Salzen erleidet, und einige Bemerkungen über die Bakterien, die während der Zubereitung auftreten[4]).

---

[1]) Sop paa klipfisk. Norsk fiskeritidende 1903, S. 534.

[2]) Sop paa klipfisk. Norsk fiskeritidende 1903, S. 592. Vgl. dazu noch Høye, Sop paa klipfisk. Norsk fiskeritidende 1904, 14.

[3]) Om klipfisken og dens mugsop. Aarberetning vedkommende Norges fiskerier for 1909, S. 161. Bergen 1910.

[4]) Vgl. auch den Aufsatz von F. Duge „Der Schimmelpilz gesalzener Fische“ in „Der Fischerbote“ III, 36 ff. (1911), der neben eigenen Erfahrungen einen Bericht über diese Arbeit Grans bringt.

Von seiten der Praktiker[1]) wird auch in neuerer Zeit immer wieder die Ansicht vertreten, daß für das Auftreten des Pilzes die Behandlung des Fisches entscheidend sei. Früher, als man den Fisch besser gewaschen und langsamer und sorgfältiger bearbeitet habe, sei wenig Pilz vorgekommen. Reinlichkeit im Betriebe hält man zwar für sehr wichtig, die Desinfektion findet aber wenig Gegenliebe.

Meine eigenen Untersuchungen über *Torula epizoa* führten zu einer Bestätigung der Angaben, welche die nordischen Forscher, insbesondere Høye, über den Pilz machen. Ich habe daher auf eine weitere Untersuchung verzichtet. Kulturen machte ich auf salzhaltigem, mit Klippfischabkochung hergestelltem Agar. Es wurde beobachtet, daß die Konidien sich zunächst vergrößerten, sich dann teilten, in Zellklumpen oder Pakete übergingen, gelegentlich einzelne kurze Hyphen hervorsprossen ließen und endlich begannen, an den hervorwachsenden Hyphenenden Ketten von Konidien hervorzubringen. Zuletzt waren kleine, etwa 1 mm große halbkugelige Häufchen, entsprechend den auf dem Fisch vorhandenen, entstanden. Nur blieben sie erheblich kleiner, und das Wachstum war sehr langsam. Daraus ist zu schließen, daß einerseits der gewählte Agarnährboden mit Fischabkochung keine besonders günstigen Bedingungen für die Entwicklung des Pilzes bietet, und daß andererseits der hohe Salzgehalt des Nährbodens das Wachstum verlangsamt. Offenbar müssen die Zellen sehr viel Energie aufwenden, um einen Turgordruck herzustellen, der dem osmotischen Druck hochkonzentrierter oder gesättigter Salzlösungen das Gleichgewicht hält.

Die Ratschläge Høyes zur Bekämpfung der *Torula* können auch auf die deutschen Verhältnisse Anwendung finden, soweit die deutsche Fischindustrie von frisch gefangenem Fisch ausgeht. Die Fabrik in Geestemünde wendet bereits mit gutem Erfolg eine Desinfektion ihrer Fabrikräume an. Da aber auch gesalzener und getrockneter Fisch vom Auslande, insbesondere von Norwegen, eingeführt und hier gelagert oder weiter verarbeitet wird, so ist die häufige Einschleppung des Pilzes unvermeidlich, und die Aufgabe bleibt bestehen, zu versuchen, ob es nicht doch möglich ist, die auf dem bereits befallenen Fische vorhandenen Keime durch eine geeignete Behandlung entwicklungsunfähig zu machen. Es erscheint wünschenswert, die bereits mit einem gewissen Erfolge begonnenen Versuche wieder aufzunehmen, sobald die Einfuhrverhältnisse es wieder gestatten.

---

[1]) Klipfiskesoppen. Møte paa Fiskeridirektørens Kontor den 3. April 1914 Norsk fiskeritidende XXXII, 406 (1914). Baggen, Klipfiskesoppen. Daselbst 1914, 267. Tendø, Klipfiskens behandling. Norsk fiskeritidende 1915, 241.

II. Die roten Bakterien.

A. Geschichtlicher Überblick.

Die zweite Schädigung des Klippfisches besteht in einer auffallenden Rotfärbung, mit der Zersetzungsvorgänge und das Auftreten eines übeln durchdringenden Geruches verknüpft sind. Mit dieser Erscheinung beschäftigte sich zuerst Farlow[1]). Als Ursache betrachtet er *Clathrocystis roseo-persicina*, einen pfirsichblütfarbenen Organismus, den zuerst Cohn[2]) zusammen mit andern rotgefärbten Mikroorganismen am Boden von Gewässern aufgefunden und beschrieben hat. Diese *Clathrocystis* soll nach Farlow auch in den Lagerhäusern, z. B. auf holzigen Teilen, vorkommen, sie soll auch am Strande häufig sein und mit dem Salz verschleppt werden. Das viel verwendete Cadixsalz, das schwach rotgefärbt ist, soll *Clathrocystis* enthalten. Farlow empfiehlt, Trapanisalz zu nehmen und die Holzteile mit Ölfarbe anzustreichen, damit sie abgewaschen werden können.

Rotgefärbte niedere Organismen sind mehrfach beschrieben worden. Farlow verweist auf die roten Algen und Bakterien, die Dunal[3]) in den Salinen des Mittelmeers, wo man das Salz auskristallisieren läßt, gefunden, und auf die, welche Ray Lankester[4]) auf unter Wasser faulenden Tieren beobachtet hat.

Neben der *Clathrocystis* fand Farlow eine *Sarcina* auf dem Klippfisch, die aber nicht rot, sondern farblos sein soll. Die Größe ihrer Zellen gibt er zu „5—8 m" (?) an. Er nennt sie *Sarcina morrhuae*, kommt aber später zu der Überzeugung, daß sie der inzwischen von Poulsen[5]) auf faulendem Schlamm am Strande gefundenen *Sarcina litoralis*, deren Zellen 2,66 bis 3,99 μ groß sein sollen, entspreche, wobei er sich auf eine von Poulsen vorgenommene Vergleichung stützt, und nennt sie nun auch *Sarcina litoralis*[6]).

---

[1]) On the nature of the peculiar reddening of salted codfish during the summer season. U. S. Commission of fish and fisheries. Report of the commissioner for 1878, S. 969. Washington 1880. S. auch die Anmerkung unter *Clathrocystis* in The Marine Algae of New England, S. 39, in U. S. Commission of fish and fisheries. Report for 1879. Washington 1882.

[2]) Untersuchungen über Bakterien II. Beiträge zur Biologie I, Heft 3, 156 (1875).

[3]) Sur les algues qui colorent en rouge certaines eaux des marais salans méditerranéens. Ann. sc. nat., 2. s., IX, 172 (1838).

[4]) On a peach-coloured Bacterium — Bacterium rubescens. Quaterly Journal of microsc. Science XIII, 408 (1873).

[5]) Om nogle mikroskopiske Planteorganismer. Vidensk. Meddel. fra den naturh. Foren. i Kjøbenhavn for 1879/80, S. 231.

[6]) Vegetable parasites of Codfish. Bull. of the U. S. Fish Commission VI for 1886, S. 3 (1887). Maladies des morues sèches. Revue mycol. VI, 197 (1884).

Einige Jahre später (1884) berichtet Bertherand[1]) über Vergiftungserscheinungen, die durch den Genuß rotgewordenen Klippfisches bei Soldaten in Algier eingetreten sein sollen, und Mégnin[2]) beschreibt einen „Protomyceten" unter dem Namen *Coniothecium Bertherandi* als Ursache dieser Rotfärbung[3]). Es sind blaßrötliche ein-, zwei- oder vierzellige Kolonien, deren Größe zu 6 bis 10 mm (?) angegeben wird. Nach Saccardo und Berlese[4]) soll dieses *Coniothecium* der *Sarcina litoralis* entsprechen. Die genannten Autoren verweisen noch darauf, daß nach Zopf[5]) sowohl die *Sarcina*[6]) wie die *Clathrocystis*, die letztere als Zoogloea, nur Zustände von *Beggiatoa roseo-persicina* seien. Farlow[7]) hält aber demgegenüber daran fest, daß die *Sarcina* und die *Clathrocystis*, die nebeneinander vorkommen, verschieden seien, und daß die *Sarcina* auch keine Beziehungen zu *Beggiatoa* habe; es fehlt ihr gänzlich die rote Farbe. Derselben Ansicht ist auch Patouillard[8]), der auf rotem Klippfisch und auf rotgewordenem gesalzenen Schweinefleisch wesentlich dieselben Organismen gefunden hat, nämlich *Clathrocystis roseo-persicina, Sarcina morrhuae (= litoralis)* und einige nicht näher bestimmte Bakterien und Pilze. Rotes Schweinefleisch beobachtete auch Farlow[9]); er hält aber nicht *Clathrocystis*, sondern vielleicht ein *Bacterium* oder einen *Bacillus* für die Ursache. Heckel[10]) in Marseille hält dann wieder *Clathrocystis* für die Ursache der Rotfärbung des Klippfisches. Layet[11]) beschreibt „sarcoden"ähnliche ein-, zwei- und vierzellige Organismen, die wohl der *Sarcina* entsprechen könnten. Er

---

[1]) Le champignon toxique de la morue sèche. Journal de médecine de l'Algérie 1884, 6. Vgl. Revue mycol. VI, 114 (1884).

[2]) Vgl. Revue mycol. VI, 114 (1884), Abbild. Taf. XVI, Fig. 3.

[3]) Es liegt noch ein älterer Bericht vor über Vergiftungen, die bei Soldaten der Fremdenlegion in der Provinz Oran durch den Genuß verdorbenen Klippfisches eingetreten sein sollen. Der Berichterstatter sagt aber nicht, daß der Fisch rot gewesen sei. Vgl. Schaumont, Relation d'un empoissonnement par de la morue avariée. Recueil de mémoires de méd., de chir. et de pharm. milit. XXXIV, 504. Paris 1878.

[4]) Miscellanea mycologica. Atti del R. Istituto Veneto, Ser. VI, Vol. III (1885). Nach Revue mycol. VII, 185 (1885).

[5]) Über den genetischen Zusammenhang von Spaltpilzformen. Monatsberichte der K. pr. Akad. d. Wiss. 1881, 277. Berlin 1882. Zur Morphologie der Spaltpflanzen (Spaltpilze und Spaltalgen). Leipzig 1882.

[6]) Die *Sarcina* finde ich bei Zopf nicht erwähnt.

[7]) A. a. O. 1886 (Bull. of the U. S. Fish Commission VI).

[8]) In Roumeguère, Les Microphytes de la morue rouge et du porc rouge, récemment observés au Havre et à Bordeaux. Revue mycol. VII, 69 (1885).

[9]) Vegetable Parasites on codfish and saltpork. Bull. of the U. S. Fish Commission VI, for 1886, S. 318. Washington 1887.

[10]) Nach Le Dantec, s. unten.

[11]) Experimental Hygiene. Observations on the red flesh of the codfish. Bull. of the U. S. Fish Commission VII for 1887, 90 (1889). Übersetzt aus Revue sanitaire de Bordeaux et de la Province 1886, April 25.

hält sie für Algen, läßt aber die Frage offen, ob sie „eine *Beggiatoa* aus der Familie der Nostocaceen, wie Farlows *Clathrocystis*", seien. Auch Johan-Olsen[1]) hat die Rotfärbung, die vermeintlichen „roten Milben" untersucht. Er findet einen *Sarcina*-ähnlichen Organismus, *Sarcina rosacea*, mit 0.3 bis 0.5 μ großen Zellen, der Gelatine verflüssigen, auf festem Nährboden runde Kolonien, auf Flüssigkeiten *Merismopedia*-ähnliche Häute bilden und den Fisch übelriechend machen soll. Andere gleichzeitige Beobachter, Gayon und Carles[2]), haben auf salzreichem Nährboden ein chromogenes Bakterium aus rotem Fisch gezüchtet.

Weitere Fälle von Vergiftung durch rotgewordenen Fisch wurden um dieselbe Zeit in St. Petersburg[3]) und in Lorient (1884) beobachtet. In dem Falle von Lorient nimmt Bérenger-Feraud[4]) einen Schimmelpilz als Ursache der Rotfärbung an. Die Frage nach der Ursache der Vergiftung wird von Layet[5]) und den meisten anderen Beurteilern dahin beantwortet, daß nicht der rote Fisch und seine Organismen als solche giftig seien, sondern daß eine gelegentlich mit der Rotfärbung, aber auch ohne dieselbe, vorkommende faulige Zersetzung, bei der Alkaloide (Ptomaine) entstehen, die Schuld trage.

Die Ansicht, daß die Rotfärbung durch einen *Bacillus* verursacht werde, vertritt bald darauf Edington[6]) und auf Grund von dessen Untersuchung auch Ewart[7]). In Schnitten durch rotes Fischfleisch wurden nur Mikrokokken gefunden, die in Spalten und an den intermuskularen Septen mehr oder weniger tief eindrangen. Von acht verschiedenen Bakterien *(Bacterium, Bacillus* und *Micrococcus)*, die Edington nach den gewöhnlichen Methoden der Reinkultur isolierte, zeigte keine eine rote Färbung. Dagegen gelang es, ein rotes Wachstum zu erhalten, wenn Teile des roten Fisches auf Brotteig (bread-paste) übertragen wurden. Daraus wurde dann durch Fraktionieren und Verdünnen ein *Bacillus* isoliert, der 1.5 bis 4 μ lange, 0,3 bis 0,5 μ dicke Stäbchen, mitunter auch *Leptothrix*-artige Fäden von bis 25 μ Länge bildet und sowohl in den Stäbchen wie in den Fäden Sporen hervorbringt. Er erhält den Namen *Bacillus rubescens*. Auf Kochs Gelatine (Kochs jelly) und auf Agar wächst dieser Organismus bei gewöhnlicher Temperatur schlecht; bei höherer, wenn die

---

[1]) A. a. O.: Christiania Vidensk. Selsk. Forhandlinger 1887.

[2]) Société d'hygiène publique de Bordeaux 1885. Nach Le Dantec, s. unten.

[3]) Nach Le Dantec, s. unten.

[4]) Nach Layet a. a. O. Die Schrift von Bérenger-Feraud (Arch. méd. naval., Jan. 1885) war mir nicht zugänglich.

[5]) S. auch Roumeguère, Revue mycol. VII, 69 (1885).

[6]) An investigation into the nature of the organisms present in „red" cod, and as to the cause of the red coloration. VI[th] Annual report of the fishery board of Scotland for 1887, Part. III, S. 207. Edinburgh 1888.

[7]) Note on the nature of „red" cod. Daselbst S. 204.

Gelatine flüssig bleibt, bildet er an der Oberfläche ein Häutchen, das sich auf Gelatine unten schwach rosa färbt, auf Agar dagegen grau bleibt und nach Art eines Ölfarbenanstrichs, der der Sonne ausgesetzt war, rissig und blasig wird. Auf Brotteig tritt deutliche Rotfärbung ein: „If merely moist, a red or eosine-pink colour will develop in a few days at the inoculated area, and this spreads slowly to the periphery. As it gets older, the red coloration passes down the sides of the flask and there becomes of a deeper tint." Edington nimmt an, das dieser *Bacillus* die Ursache der Rotfärbung des Fisches sei. Auch aus dem Salz, mit dem der Fisch gesalzen wird, hat er ihn isoliert; er gibt allerdings nicht näher an, woher er das Salz erhalten hat. Subkutane Einimpfung an Meerschweinchen blieb ohne pathologische Wirkung. Borsäure (3 %) hemmte die Entwicklung der Bakterien.

Ob die von Edington verwendeten Nährböden salzhaltig waren oder nicht, wird in der Abhandlung nicht gesagt.

Eine eingehende Untersuchung hat bald darauf Le Dantec[1]) angestellt (1891). Er unterscheidet zwei Grade der Rotfärbung. Im ersten Grade befallener Fisch hat einen leicht abhebbaren, nicht klebrigen Überzug, unter dem das Fleisch noch fest und gesund ist. Darin wurde eine schwach grünliche Alge gefunden, die, wie Le Dantec meint, wahrscheinlich der *Clathrocystis,* dem Protomyceten oder der „Alge" der früheren Beobachter entspricht, ferner Bazillen und Kokken. Der erste Grad geht nach zwei bis drei Monaten in den zweiten über. Dann ist der Fisch mit einer klebrigen, roten Masse bedeckt, er zeigt alkalische Reaktion und entwickelt einen ekelerregenden Geruch. Jetzt tritt ein *Sarcina*-ähnlicher *Coccus* auf, dessen Zellen oft zu vieren vereinigt sind. Die Aussaat auf künstlichen Nährboden ergab nur gewöhnliche Bakterien, auf einer vergessenen Schale wurde aber eine rote Kolonie auf einer Kolonie weißer gefunden. Die weiße Kolonie bestand aus kleinen Kokken, die rote enthielt bewegliche 4 bis 10, selbst bis 12 μ und darüber lange Stäbchen mit Spore an dem einen Ende. Reinkulturen konnten erhalten werden, indem aus der Schale die Stellen, wo nichts gewachsen war, herausgenommen und mit neuer Gelatine gemischt zu neuen Platten gegossen wurden; dann entstanden nach acht Tagen rote Kolonien. Ferner wurde die Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen Wärme benutzt; die verdünnte rote Masse wurde in einer zugeschmolzenen Kapillare eine Minute lang auf 95° erwärmt und dann ausgesät. Die Kulturen gaben bei 10 bis 15° Wärme mehr rote Färbung als bei höherer Temperatur. In flüssigen Nährböden (Bouillon) entstand nur Trübung, keine Färbung. Über die Zusammensetzung der Nährböden, insbesondere den Salzgehalt derselben, werden keine näheren Angaben gemacht; es ist nur

[1]) Etude de la morue rouge. Annales de l'Institut Pasteur V, 656 (1891).

die Rede von Bouillon und Gelatine. Fisch wurde rot gefärbt, aber frischer Fisch besser als sterilisierter. Le Dantec nennt den Organismus den „roten *Bacillus* von Neufundland" (bacille rouge de Terre neuve). Krause[1]) nennt ihn später *Bacillus Danteci*.

Ferner wurde ein *Coccus* isoliert, der die Bezeichnung „*Coccus* der Kabeljaurotfärbung" (Coccus du rouge de morue) erhielt. Er tritt in beiden Stadien der Rotfärbung auf, namentlich aber auf der zweiten Stufe. Er wächst schlecht auf künstlichem Nährboden, das oben beschriebene Verfahren war ohne Erfolg; man erhält ihn nur zufällig, wenn man zahlreiche Schalen ansetzt. Er lebt auf dem Fisch mit anderen Mikroben zusammen, namentlich mit einem kleinen, verflüssigenden *Coccus*. Mit diesem zusammen gibt er viel rote Farbe, während er allein den Fisch nicht färbt. Der Durchmesser soll 3 bis 5 μ betragen.

Außer diesen beiden Organismen wurden gefunden eine rosa Hefe, ein roter Schimmel und mehrere Kokken, die gelbe Farbe hervorbringen. Rotgefärbter Fisch erwies sich beim Genuß als unschädlich, doch kann er schädlich werden, wenn er stark verdorben ist. Über den Ursprung des Übels hat Le Dantec kein bestimmtes Urteil. Er macht aber die Lagerräume und Geräte mit verantwortlich und erklärt die gesteigerte Häufigkeit durch die Zunahme längerer Lagerung. Als Gegenmittel empfiehlt er die Anwendung konservierender Zusätze beim Salzen.

Später kommt Le Dantec[2]) noch einmal auf den Gegenstand zurück. Er hat den roten *Bacillus* nicht wiedergefunden, aber aus 25 Proben immer wieder einen anderen, sehr merkwürdigen *Bacillus* erhalten, den er jetzt als die Ursache der Rotfärbung betrachtet. Dieser bildet 2—15 μ lange, mitunter fast fadenförmige Stäbchen ohne Sporen. Er ist in den roten Massen auf dem Fisch unbeweglich, wird aber in Salzwasser leicht beweglich. Er ist Gram-negativ. Bei 68 bis 70° wird er in einer Minute getötet. Er wächst nur auf Nährböden, die mit Kochsalz übersättigt sind. Das Natrium ist spezifisch für ihn und kann nicht durch Kalium, Kalzium oder Magnesium ersetzt werden. In einer Bouillon aus 20 g Fisch, 80 g Salz und 200 g Wasser kommt er mit dem ersten Schlag (d'emblée) zur Entwicklung und kann daraus auf festem Nährboden isoliert werden. Die Bouillon bedeckt sich nach 5 bis 10 Tagen mit einem roten Schleier. Übrigens wächst er auf den künstlichen Nährböden sehr schlecht (misérablement), sein eigentlicher Boden ist der gesalzene Fisch. Hier begleiten ihn andere Bakterien, die seine Entwicklung zu begünstigen scheinen, eine *Sarcina*, ein Gram-negativer *Coccobacillus* und ein langer Gram-positiver *Bacillus*. Es gelang, den roten *Bacillus* auch aus Seesalz vom Mittelmeer und von

[1]) In Flügge, Die Mikroorganismen, 3. Aufl., Bd. II, 270 (1896).

[2]) Le microbe du rouge de morue. Compt. rend. hebd. des séances et mémoires de la Société de Biologie LVIII, 2, S. 136 (1906).

Lissabon zu isolieren. Le Dantec empfiehlt daher, das zum Salzen zu verwendende Salz zu pasteurisieren.

Auch Høye[1]) bespricht die Rotfärbung des Klippfisches. Er hebt hervor, daß in Norwegen wesentlich die *Torula* auftritt, während sich die Rotfärbung mehr in den Betrieben Frankreichs, Islands und der Faröer findet. In der Veröffentlichung von 1904 erwähnt Høye eine rote *Sarcina* und einen weißen *Sarcinomyces*. Der letztgenannte ist wenig gefährlich, obgleich er oft in so großen Massen auftritt, daß die weiß granulierten Zellenhaufen den Fisch fast ganz bedecken. Die rote *Sarcina* soll dagegen den Fisch übelriechend und unbrauchbar machen. In der Arbeit von 1906 nennt Høye außer *Torula epizoa* und *T. minuta* eine Reihe anderer salzliebender oder salzertragender Organismen:

Sarcinomyces islandicus, vermutlich dem eben erwähnten *Sarcinomyces* entsprechend, mit Zellen von 6 bis 7,7 μ Durchmesser, die zu zwei, vier oder mehreren zu Paketen vereinigt sind, tritt besonders auf Fischen von Island auf, ist aber ohne große Bedeutung. Dies gilt in noch höherem Grade für zwei andere Arten, *S. niger* und *S. sporigenus*[2]).

Micrococcus α, mit Zellen von 1,2 bis 1,3 μ Durchmesser, die oft *Diplococcus*-Form annehmen, bildet rötlich gelbe Kolonien. *Micrococcus* β, mit Zellen von 1,2 μ Durchmesser, bildet wachsgelbe Kolonien. *Bacillus* γ bildet blasse Kolonien sehr beweglicher Stäbchen von 2,5 bis 4 μ Länge und 1 μ Dicke. Alle drei Bakterienarten wachsen am besten auf Nährböden mit 10 bis 15 % Kochsalzgehalt. Sie haben aber keine Beziehung zur Rotfärbung und sind für den Fisch ohne wesentliche Bedeutung.

Außer diesen Organismen fand Høye noch drei Hefearten und einige Fadenpilze, nämlich *Hormodendron halophilum*, *Penicillium glaucum* und *Aspergillus glaucus*. Die rote *Sarcina* von 1904, welche die Ursache der Rotfärbung sein soll, wird nicht wieder erwähnt.

In der Arbeit von 1908 nennt Høye außer dem *Micrococcus* β und dem *Bacillus* γ noch „rote Bakterien", die insbesondere auch in den Salzlagern auftreten. Sie wachsen nur auf der Oberfläche, nicht in den Fisch hinein, und bestehen aus etwas ovalen, in Gallerte eingebetteten Kokken, die häufig zu Diplokokken vereinigt sind; ihre Größe beträgt etwa 1 μ. Ihr Wachstum ist sehr langsam, sowohl auf Mehl wie auf Grütze.

---

[1]) A. a. O. Bergens Mus. Aarbog 1904, 1906, 1908.

[2]) Die von Lindner (Mikrosk. Betriebskontrolle, 2. Aufl., S. 228 [1898]) mit zwei Arten *S. crustaceus* und *S. albus* beschriebene Gattung *Sarcinomyces* bildet kurze, wenig entwickelte Fäden, deren Zellen durch Teilung in *Sarcina*-ähnliche Pakete übergehen. *S. crustaceus* bildet aus den *Sarcina*-Zellen Sproßkonidien. Genauere Untersuchungen fehlen. *Sarcinomyces islandicus* wird von Høye ohne Autor und ohne Literaturnachweise erwähnt; anscheinend hat er den Namen selbst gegeben. Vgl. auch Lindner, 4. Aufl., 1905, 324, und Lindau, Pilze VIII, 10 in Rabenhorst, Kryptogamenflora.

Neuerdings beschreibt Beckwith[1]) einen, wie er meint, neuen halophytischen *Diplococcus*, den er neben *Clathrocystis, Sarcina* und verschiedenen anderen Bakterien auf rotem Fisch fand. Er nennt ihn *Diplococcus gadidarum*. Die Zellen sind 0,4 bis 0,5 μ groß und Gram-positiv. Nach zwei Jahren entstanden Involutionsformen von 1 μ Größe. Zu Kulturen wurden Bouillon, Fischaufguß oder Fischabkochung mit 2 % Agar und 5 bis 10 % Kochsalz verwendet. Dieser Gehalt an Kochsalz soll die günstigsten Bedingungen geben. Auf derartigen Nährböden entstehen bei 20 bis 30° in 96 Stunden lachsfarbene Kolonien von 1 bis 2 mm Durchmesser, die bei wiederholtem Umimpfen blasser werden. In Ausstrichpräparaten von Fischfleisch ist der *Diplococcus* die vorherrschende Bakterienform. Beckwith hält ihn für die Ursache der Rotfärbung und meint, daß er die stärkste zersetzende Wirkung hat, gibt aber zu, daß die vorherrschenden Bakterien vielleicht wechseln.

Nach den Untersuchungen von Kellerman[2]) sollen Høyes *Micrococcus* (1908) und Beckwiths *Diplococcus gadidarum* der schon von den ersten Beobachtern beschriebenen *Sarcina morrhuae* oder *S. litoralis* entsprechen. Beckwiths *Diplococcus* soll keine einheitliche Art sein, sondern zwei verschiedene Arten umfassen, die Kellerman als *Micrococcus litoralis* und *Micrococcus litoralis gadidarum* bezeichnet und unterscheidet.

Micrococcus litoralis lebt einzeln oder auch in Zellengruppen und bildet lachsfarbene Kolonien von 1 bis 3 mm Durchmesser; die Zellen sind größer, 1,2 bis 1,6 μ. Synonym sollen sein *Sarcina litoralis* Poulsen, *Clathrocystis roseo-persicina* Farlow und *Diplococcus gadidarum* Beckwith (zum Teil).

Micrococcus litoralis gadidarum lebt meist einzeln, seltener in Gruppen, und bildet leuchtend zinnoberrote (brilliant vermillion) Kolonien von 0,5 bis 2 mm Größe; die Zellen sind kleiner, 0,35 bis 0,5 μ. Als synonym wird *Diplococcus gadidarum* Beckwith (zum Teil) angegeben.

Die größere Art ist widerstandsfähiger gegen Austrocknen und wächst im allgemeinen rascher; auf Konzentrationen von über 20 % Kochsalz wächst die kleinere besser, aber beide vertragen 30 %. Besonders gut wachsen sie, wenn sie beisammen sind. Beide sind Gram-positiv; sie verflüssigen Gelatine nicht.

Außer den beiden genannten Arten wurden gefunden ein kleiner orangefarbener, ein gelber und ein farbloser *Micrococcus*, ferner ein Bakterium von der Zellengröße 2—4 : 1 μ und ein kleiner beweglicher Organismus, der wahrscheinlich ein Protozoon war.

---

[1]) Ein halophytischer Diplococcus. Centralbl. f. Bakt. 2, XXXII, 193 (1912). The bacteriological cause of the reddening of cod and other allied fish. Centralbl. f. Bakt. 1, LX, 351 (1911).

[2]) Micrococci causing red deterioration of salted codfish. Centralbl. f. Bakt. 2, XLII, 398 (1915).

Kellerman hält es für wahrscheinlich, daß die den Klippfisch rot färbenden Bakterien in den Salzsümpfen (salt marshes) an den Küsten leben, und daß sie ausgedehnte Trockenperioden ertragen können. Er weist darauf hin, daß Peirce aus konzentrierter Salzsole von den Küsten der Bucht von San Franzisko, wo man Seesalz gewinnt, Organismen isolierte, die mit den Klippfischbakterien wahrscheinlich identisch seien. Ob diese Ansicht Kellermans richtig ist, ist nicht klar zu erkennen.

Peirce[1]) bezeichnet seine Organismen, die zu den Fäulnisbakterien des Salzwassers gehören, als „Bazillen“, gibt aber die Maße 3,4—3,6 : 3,2—3,3 μ an, die auf Bazillen keinesfalls passen, vielmehr auf Kokkenform hinweisen, aber auch für Kokken ungewöhnlich groß und erheblich größer sind als die Maße der Mikrokokken Kellermans. Übrigens sollen jene „Bazillen“ auch auf dem auskristallisierenden Salz leben und dieses und die Sole rot färben. Es läge danach die Möglichkeit vor, die Peirce auch in Betracht zieht, daß sie mit Seesalz auf Klippfisch gelangen und an dem Rotwerden desselben beteiligt sind. Daß bei den Versuchen von Peirce die Übertragung dieser Bakterien auf Klippfisch rote Vegetationen auf diesem hervorrief, beweist allerdings nicht, daß es sich um die Bakterien der Klippfischrotfärbung handelt. Entscheidender ist die Angabe, daß es gelang, von rot gewordenem Klippfisch gleiche rote Kolonien zu gewinnen; sie verliert aber dadurch an Wert, daß Peirce nichts über eine Vergleichung der aus den beiden verschiedenen Quellen gezüchteten Bakterien sagt und auch keine Abbildungen gibt. Eine Einschränkung der Abbildungen der Kulturgläser mit Wattepfropfen zugunsten von Bildern der Bakterien selbst wäre daher sehr zu begrüßen gewesen. Es mag noch bemerkt sein, daß die rote Farbe, die von „pink“ durch „clear red“ zu „crimson“ abändert, aus den Kolonien herausdiffundieren und den Agar blaßrosa färben soll.

Zum Schluß sei noch auf einige in der Literatur erwähnte Schriften verwiesen, die ich mir bislang nicht zugänglich machen konnte[2]).

B. Die bei eigenen Untersuchungen gefundenen Bakterien.

Meine eigenen Beobachtungen beruhen teilweise auf den Erfahrungen, die ich bei wiederholten Besuchen im Klippfischlager im Hamburger Hafen und im Klippfischwerk zu Oxstedt bei Cuxhaven machte, zum größten Teil

[1]) The behaviour of certain microorganisms in brine. In Mac Dougal and collaborators, The Salton sea, S. 48. Carnegie Inst. of Washington, Publication Nr. 193 (1914).

[2]) Smiley, The reddening of codfish. Americ. Journ. monthly microsc. X, 1889. Washington. Kulesj, Bull. Bacter. Labor. Minist. Agric. St. Petersburg 1901. Bitting Bull. 133. Bur. of Chemistry U. S. Dep. Agric. Dec. 1910. Hier soll ein *Coccus* beschrieben sein, der von Beckwiths *Diplococcus* ganz verschieden ist.

aber auf der Untersuchung der zahlreichen von dort mitgenommenen oder zugesandten Proben. Die Rotfärbung tritt namentlich in den warmen Sommer- und Herbstmonaten auf, aber auch während des Winters kann sie sich, wenn sie einmal vorhanden ist, weiter entwickeln. Ein besonders starker Befall wurde im Herbst 1917 in den Lagern zu Oxstedt und in Cuxhaven beobachtet. Stark befallener Fisch kann schon von weitem durch die rötliche Farbe auffallen. Die Rotfärbung findet sich oberflächlich sowohl auf der Hautseite wie auf der durch die Zubereitung freigelegten Fleischseite; sie kann auch in den Spalten, die sich zwischen den Muskelbündeln bilden, tiefer in das Fleisch eindringen. Man findet rote Tropfen, rote schmierige Überzüge oder auch eine anscheinend diffuse Durchtränkung des Fischfleisches. Der Farbenton ist annähernd zinnoberrot oder etwas blasser, oft mit einem Stich ins Orangerote.

1. Der rote Bacillus.

a) Kulturen.

Da die Erscheinungen von vornherein den Eindruck eines Bakterienbefalls machten, wurden die Versuche auf die Isolierung roter Bakterien eingestellt. Aussaaten auf den gebräuchlichen Bakteriennährböden ergaben zwar stets eine Anzahl verschiedenartiger Bakterienkolonien, aber meist solche von weißer, gelblicher, hellbräunlicher oder grauer Farbe, nur selten stärker gelb oder rötlich gefärbte. Dagegen war es leicht möglich, durch Übertragung winziger Mengen roten Fischfleisches oder auch bloß durch Nadelstiche von rotem Fisch ausgehend auf Stücken gesunden Klippfisches Rotfärbung hervorzurufen, die sich von den Impfstellen aus allmählich verbreitete. Da diese Klippfischstückchen feucht gehalten und gegen die gewöhnlichen Fäulniserreger geschützt werden mußten, wurden sie in sterilen Petrischalen auf eine feuchte Kochsalzschicht gelegt, die gleichfalls zuvor sterilisiert war. Dabei machte sich dann mehrfach die Erscheinung bemerkbar, daß das Salz, das sich allmählich mit den aus dem Fisch ausgelösten Stoffen durchtränkte, eine deutliche blaßrote Färbung annahm. Dies entspricht auch Beobachtungen aus der Praxis. Rotgefärbtes Salz ist in den Fabriken und Lagern mehrfach aufgefallen und hat schon bei den älteren Beobachtern, wie auch im voraufgehenden wiederholt angedeutet ist, zu der Frage Veranlassung gegeben, ob vielleicht die Rotfärbung von dem Salze ausgehe und der rote Organismus ursprünglich im Salze lebe.

Nach diesen Erfahrungen war anzunehmen, daß die gesuchten Bakterien eine ausgeprägte Vorliebe für Salz haben. Es wurden daher stark salzhaltige Nährböden hergestellt, zunächst aus Agar mit Abkochung von Klippfisch und genügendem Salzsusatz bis zur Sättigung. Aber auch darauf wurde das gewünschte Ergebnis nicht sogleich erhalten.

Die Vermutung, daß vielleicht durch die Erhitzung Veränderungen in den Nährböden zustandekommen, die das Wachsen der Bakterien ungünstig beeinflussen, ließ dann Versuche auf ungekochten keimfreien Nährböden wünschenswert erscheinen. Solche Nährböden wurden auf verschiedene Weise gewonnen:

1. Glattgeschnittene Klippfischstückchen wurden auf der zuvor genügend abgetrockneten Oberseite mit einer Kollodiumschicht überzogen. Sie wurden dann in sterile Petrischalen auf feuchtes Kochsalz gelegt und auf der Kollodiumschicht geimpft. Es ist anzunehmen, daß die aus der ätherischen Lösung abgeschiedene Kollodiumschicht keine lebenden Keime enthält, und daß keimfreier Fischauszug durch sie hindurch diffundiert.
2. Auf feuchte Klippfischstückchen, die in Petrischalen auf feuchtem Kochsalz lagen, wurden dünne Platten aus gebranntem, porösem Ton oder dünne Gipsplatten, die zuvor sterilisiert worden waren, aufgelegt. Nachdem diese Platten mit der Feuchtigkeit aus dem Fisch durchtränkt waren, wurden sie auf der Oberfläche geimpft. Auch hier konnte angenommen werden, daß die durch die Platte hindurch diffundierende Flüssigkeit keimfrei war.
3. Durch Übergießen von zerkleinertem Klippfisch mit wenig Wasser und zwei- bis dreitägiges Ziehen wurde eine Lösung der im Klippfisch enthaltenen löslichen Stoffe hergestellt. Die Lösung wurde mit Kochsalz gesättigt, durch Filtrieren geklärt und dann durch Filtrieren durch ein Berkefeldfilter keimfrei gemacht[1]). Zur Herstellung von Kulturen dienten dann:
   a) steriles Kochsalz, das mit dieser Lösung getränkt war,
   b) sterile Tonplatten, die auf getränktes Kochsalz gelegt wurden,
   c) kochsalzgesättigter dreiprozentiger Agar, der nach genügendem Abkühlen vor dem Erstarren rasch mit einer ungefähr gleichen Menge der Lösung gemischt wurde.

Wie schon bemerkt, entwickelte sich in dem Kochsalz, das sich mit der aus dem roten Fisch herausdiffundierenden Flüssigkeit durchtränkte, mitunter eine merkliche Rotfärbung. Dieselbe Färbung konnte auch künstlich hervorgebracht werden, wenn etwas von der roten Masse oder etwas rotgewordenes Fischfleisch in Kochsalz gebracht wurde, das mit keimfrei gemachtem Fischauszug getränkt war.

Sowohl durch Impfen mit der Flüssigkeit aus solchem Kochsalz wie durch Verreiben der unmittelbar vom Fisch entnommenen roten Masse gelang es, auf den Tonplatten und auf dem mit Kollodium überzogenen

---

[1]) Die Filtration durch das Berkefeldfilter ließ Herr Dr. Kammann im Hygienischen Institut in Hamburg mit den dort vorhandenen Einrichtungen für mich ausführen.

Fischfleisch rote Bakterienkolonien zu erhalten. Die Entwicklung ging aber sehr langsam vor sich. Die Kulturen auf Tonplatten gestalteten sich am saubersten und bequemsten und wurden daher später vorzugsweise verwendet.

Die erhaltenen Kolonien bildeten klar aussehende Tropfen von lebhaft zinnoberroter Farbe, die sich langsam in einer fettig glänzenden Schicht über die Tonplatte oder das Kollodiumhäutchen auf dem Fischfleisch ausbreiteten. Sie waren von vornherein fast völlig rein oder wurden durch ein- oder zweimalige Übertragung rein, da die meisten andern Bakterien auf dem stark salzhaltigen Nährboden nicht oder schlecht wachsen. Die Übertragung auf Fischfleisch rief auch auf diesem starke Rotfärbung hervor.

Über den Verlauf einiger Kulturreihen sei ein kurzer Überblick gegeben:

I.

115. 9. Sept. 1916. Übertragung von rotem Fisch in eine Schale Salz, das mit Fischauszug getränkt ist. Das Salz färbt sich rosa.

176. 17. Dez. 1916. Übertragung aus Salzschale 115 auf Agar mit Fischabkochung. Neben weißen und gelblichen Kolonien sind am 23. Febr. 1917 stark rotgefärbte vorhanden.

253. 28. Febr. 1917. Übertragung aus einer roten Kolonie der Schale 176 auf ein Tonplättchen, das auf Fisch liegt. Am 26. März schwache, am 17. Juni starke Rotfärbung auf der Platte.

296. 29. März 1917. Übertragung aus 253 auf Fisch. Deutliche Rotfärbung am 30. April, starke am 17. Juni.

II.

144. 17. Dez. 1916. Übertragung aus Salzschale 115 auf eine Gipsplatte, die auf Fisch liegt. Am 19. Januar 1917 rote Kolonien zwischen weißlichen und grauen.

183. 24. Januar 1917. Übertragung aus 144 auf Agar mit ungekochtem Fischauszug. Am 23. Febr. rote Kolonien.

276. 28. Febr. 1917. Übertragung aus 183 auf gleichen Agar. Einzelne rote Kolonien am 26. März.

III.

154. 17. Dez. 1916. Übertragung von rotem Fisch auf ein Tonplättchen, das auf einem Fischstückchen liegt. Am 2. Jan. 1917 sind klare rote Tropfen entwickelt.

156. 2. Jan. 1917. Übertragung aus 154 auf Fisch, der mit einem Kollodiumhäutchen überzogen ist. Am 20. Jan. sind klare rote Tropfen vorhanden.

201. 27. Jan. 1917. Übertragung aus 156 auf ein Tonplättchen, das auf Kochsalz mit keimfreiem Fischauszug liegt. Am 10. Febr. rote Tropfen entwickelt.

236. 13. Febr. 1917. Übertragung aus 201 auf Agar mit keimfreiem, ungekochtem Fischauszug. Am 12. März rote Kolonien vorhanden. Am 26. März die Kolonien abgeblaßt.

285. 26. März 1917. Übertragung aus 236 auf gleichen Agar. Am 16. April rote Kolonien. Am 17. Juni die Kolonien abgeblaßt.

284. 26. März 1917. Parallelversuch zu 285 auf Agar mit gekochtem Fischauszug. Am 16. April rote Kolonien.

IV.

179. 21. Dez. 1916. Übertragung aus Salzschale 115 auf ein mit Kollodium überzogenes Fischstückchen. Am 20. Jan. rote Kolonien vorhanden.

181. 24. Jan. 1917. Übertragung durch Nadelstiche auf Fischagar. Am 5. Febr. gelbliche Kolonien, die sich zu kleinen kreisförmigen Flächen ausbreiten. Vom 12. März an treten rote Kolonien auf den blassen auf, die sich nach und nach vergrößern und deren Zahl sich vermehrt. Sie fließen teilweise zu eigentümlich verzweigten Figuren zusammen, sondern sich aber scharf von den blassen Bakterien ab, auf denen sie anscheinend ausgezeichnet gedeihen. In der photographischen Aufnahme vom 18. April (Tafel I, Abb. 1) heben sich die roten Kolonien durch die dunkle Farbe und den eigentümlichen Glanz scharf von den blassen Bakterien ab. Zugleich zeigen die Kochsalzkristallisationen auch im Bilde, daß die Entwicklung bei Sättigung des Nährbodens mit Kochsalz zustande kommt. Die Schale konnte dann, allmählich austrocknend, noch längere Zeit aufbewahrt werden.

Nachdem es einmal gelungen war, Kolonien der roten Bakterien zu erhalten, ließen sie sich auch auf verschiedenen anderen Nährböden zum Wachsen bringen. Anfangs schien es, als ob durch Kochen gewonnener Fischauszug ein weniger geeigneter Nährboden sei, doch wurden später auch auf Agar, der mit gekochtem Fischauszug gemischt war, rote Kolonien erhalten, wenn die Übertragung von solchen Kolonien aus erfolgt war. Außer dem oben bereits erwähnten Fall (Schale 284) habe ich dafür, von neueren abgesehen, nicht weniger als zehn ältere Parallelkulturen als Beispiele, von denen zwei auf die Salzschale 115, acht auf die Tonplattenkultur 154 zurückgehen. Wenn auf Agarnährböden, gleichviel welcher Art, zahlreiche Kolonien so dicht nebeneinander zur Entwicklung kommen, daß sie zusammenfließen, sieht die Oberfläche des Agars wie mit einer glänzenden, blaßrot bis tiefer rot gefärbten Lackschicht überzogen aus. Der Glanz und das klare durchsichtige Aussehen gehören überhaupt zu

den die Kolonien dieser roten Bakterien für das bloße Auge besonders kennzeichnenden Merkmalen. Noch sei darauf hingewiesen, daß die Vorliebe dieser Organismen für hohen Salzgehalt sich nicht selten äußerlich dadurch zu erkennen gibt, daß rote Kolonien unmittelbar auf den Kristallen sitzen, die sich aus dem Nährboden ausscheiden.

Im Hygienischen Institut wurde mir Pferdeserum als ein für manche Kulturen sehr vorteilhafter und zum Isolieren der Keime durch Ausstreichen geeigneter Nährboden empfohlen und für meine Zwecke kochsalzgesättigt und mit Zusätzen von Pepton oder Pepton und Traubenzucker (je 1%) hergestellt. Es ergab sich, daß sich auf der ziemlich festen Oberfläche die Keime durch Verreiben in der Tat gut trennen lassen, daß die Kulturen kräftig gefärbt zur Entwicklung kommen, und daß die Schalen, wenn nicht zufällig Schimmelpilze eindringen, die sich auch durch den Kochsalzgehalt nicht allzusehr stören lassen, sich monatelang halten; einzelne Platten habe ich acht bis neun Monate aufbewahren können. Von der hellen, gelblichweißen Farbe des Serums heben sich die stark rotgefärbten Kolonien vorteilhaft ab. In älteren Platten beginnen sie allerdings abzublassen und einen violettbraunen Ton anzunehmen.

Ein anderer geeigneter Nährboden ist ein Brei aus Maismehl mit einem Zusatz von Fischauszug. Diesen Nährboden zu versuchen veranlaßten mich die Angabe Høyes, daß die nicht selten vorkommende Verunreinigung des Salzes mit Mehlstaub die Vermehrung der Keime der Klippfischschädlinge im Salz begünstige, sowie seine Kulturen der *Torula epizoa* auf Mehlbrei. Da mir zu jener Zeit nur etwas Maismehl zur Verfügung stand, verwandte ich dieses zu den Versuchen. Es ergab sich, daß die Bakterien auf diesem Nährboden zwar wuchsen, gut aber nur dann, wenn derselbe neben Kochsalz einen Zusatz von gekochtem oder ungekochtem Fischauszug erhielt. Auch hier gewährte dann der fettig glänzende, leuchtend rote Überzug der Bakterienkolonien einen auffälligen Anblick. Der mit gekochtem Fischauszug getränkte Maisbrei ergab mitunter eine kräftigere Rotfärbung als der mit ungekochtem getränkte.

Kulturen in flüssigem Nährboden, z. B. in Fischabkochung oder in keimfrei gemachtem, ungekochtem Fischauszug, diese selbstverständlich kochsalzgesättigt, führten zu keiner auffälligen Entwicklung. Es entsteht ein weißlicher, nur in der Mitte, wo er am dichtesten ist, blaßrötlicher Bodensatz. Die Flüssigkeit erfährt eine gelinde Trübung, besonders an der Oberfläche. Das verhältnismäßig schlechte Gedeihen der Bakterien in der Flüssigkeit dürfte damit zusammenhängen, daß sie ein hohes Sauerstoffbedürfnis haben. Das zeigte sich auch an den Tonplatten- und Salzschalenkulturen. Wenn in einer solchen die Tonplatte sich mit einer roten Schicht überzogen hatte und das Kochsalz rosa gefärbt war, fehlte die rote Farbe unter der Tonplatte.

Mit verschiedenartigem Erfolg wurden noch Versuche auf einer Anzahl weiterer Nährböden ausgeführt. Es erwies sich, daß der rote Organismus gegen die Art der Nährböden sehr empfindlich ist und daher nur auf einer beschränkten Zahl derselben zur Entwicklung kommt.

Im folgenden stelle ich ein Verzeichnis der verwendeten Nährböden zusammen nebst Angaben über die Entwicklung der Bakterien. Alle Nährböden waren kochsalzgesättigt.

1. Tonplatten auf nichtsterilisierten Fischstückchen oder auf Kochsalz, das mit keimfreiem Fischauszug oder mit Fischabkochung getränkt war: Entwicklung sehr gut.
2. Kochsalz, mit keimfreiem Fischauszug oder mit Fischabkochung getränkt: Flüssigkeit rosa bis rot, lange Stäbchen oder Fäden.
3. Fischauszug oder Fischabkochung, kochsalzgesättigt, aber ohne weiteren Zusatz: schwach gefärbter Bodensatz, Flüssigkeit wenig getrübt.
4. Agarnährböden: a) mit Fischauszug oder Abkochung: gut; b) mit Liebigs Fleischextrakt: ziemlich gut; c) mit Pepton, Asparagin und Traubenzucker: sehr schwach; d) mit Salepabkochung[1]): keine Entwicklung; e) mit Albumin: keine Entwicklung; f) mit Traubenzucker: keine Entwicklung; g) mit Hefeextrakt[2]), mit und ohne Pepton: keine Entwicklung.
5. Albumin, nach Auflösen in Wasser durch Erhitzen zum Gerinnen gebracht: keine Entwicklung.
6. Gelatine mit Fischauszug: ziemlich gut.
7. Pferdeserum mit 1% Pepton und 1% Traubenzucker oder mit Pepton allein: sehr gut.
8. Mehlbrei (aus Maismehl): a) ohne Zusatz: Entwicklung schwach, aber Farbe kräftig; b) mit Fischauszug oder mit Fischabkochung: sehr gut; c) mit Liebigs Fleischextrakt: gut.

Kulturen bei verschiedenen Temperaturen gaben einigen Aufschluß über die Wärmeansprüche des roten Organismus. Ich konnte zwei Thermostaten des Hygienischen Instituts benutzen, die ständig auf 22° und 37° eingestellt sind, sowie einen Thermostaten des Botanischen Instituts, der auf 29° eingestellt wurde. Es ergab sich, daß die Bakterien bei 29° besser wuchsen als bei 22° und bei 37° anscheinend mitunter noch besser als bei 29°. Eine bequeme Lösung der Aufgabe, die Temperaturanforderungen genauer festzustellen, hätte die Aufstellung einer größeren Zahl von Thermostaten nötig gemacht. Die wesentlichsten Schwierig-

---

[1]) Für viele Pilze sehr geeigneter Nährboden, vgl. Klebahn, Haupt- und Nebenfruchtformen der Askomyzeten I, 19 (1918).

[2]) Im Hygienischen Institut für Bakterienkulturen als Ersatz für Fleischextrakt in Gebrauch.

keiten ergeben sich aus der langsamen Entwicklung der Bakterien. Bei Temperaturen über 37° macht sich das auch insofern störend bemerkbar, als die Nährböden zu rasch austrocknen.

Die Reaktion der Kulturen war neutral oder sehr schwach alkalisch. Etwas mehr alkalische Reaktion, aber auch nur Spuren, zeigte die durch die Bakterien rötlich gefärbte Flüssigkeit in den Petrischalen, in denen ich Kulturen auf Klippfischstücken, die auf Salz lagen, zur Entwicklung gebracht hatte. Indessen enthielt diese Flüssigkeit außer den roten Bakterien wohl noch andere.

b) Mikroskopische Untersuchung.

Auffälligerweise blieben anfangs alle Versuche, die Bakterien in gefärbten mikroskopischen Präparaten nachzuweisen, ohne Erfolg. Bringt man mit der Spitze eines Platindrahts ein wenig von einer Kolonie in ein Tröpfchen Wasser und verreibt es, um die Bakterien zu verteilen, so entsteht eine stark aufquellende fadenziehende Gallerte, die sich nur mit Mühe einigermaßen gleichmäßig verteilen läßt und deren Menge im Verhältnis zu der aufgewendeten Probe auffällig groß ist. Färbt man nach dem Austrocknen in der üblichen Weise, so findet man bei der Untersuchung eine fadenartig und netzig geronnene Masse, in der mehr oder weniger deutliche Pünktchen von sehr geringer Größe verteilt sind (Tafel II, Abb. 9). Lange war ich der Meinung, daß es sich um äußerst winzige kokkenartige Bakterien handle, die nur in sehr geringer Zahl anwesend und durch eine sehr starke Gallertbildung ausgezeichnet seien. Erst die Untersuchung ungefärbter und unbehandelter, ohne Wasserzusatz zwischen Deckglas und Objektträger zerdrückter Kulturen führte auf den richtigen Weg, indem sie erkennen ließ, daß die rote Masse sich aus ziemlich großen dichtgedrängten Stäbchen zusammensetzt. Fügt man Wasser hinzu, so entstehen im Umfang der Bakterienmasse lebhafte Strömungen, welche die genaue Beobachtung unmöglich machen; aber man gewinnt den Eindruck, daß die Bakterien aufschwellen und verquellen. Sie scheinen also dermaßen an die Sättigung ihres Nährbodens mit Kochsalz angepaßt oder infolge der Kultur gewöhnt zu sein, daß sie bei Wasserzusatz infolge des Aufhörens des osmotischen Außendrucks alsbald gewissermaßen explodieren und sich in den fadenziehenden Schleim verwandeln. Der Vorgang erinnert an das Verhalten gewisser Tiefseetiere, die durch ihren Innendruck zerplatzen, wenn sie aus der Tiefe heraufgeholt werden.

Nachdem diese durchaus verständliche, aber zunächst unerwartete Tatsache festgestellt war, gelang es auch leicht, die Bakterien zu färben. Das folgende Verfahren ergibt meistens gute Präparate. Man verreibt eine mit der Spitze eines Drahts entnommene Probe einer Kolonie in

einem möglichst kleinen Tropfen konzentrierter Kochsalzlösung auf dem Objektträger, läßt austrocknen, tötet mit einem Tropfen verdünnter alkoholischer Jodlösung ab, wäscht mit Alkohol aus, erhitzt nach dem Abtrocknen in der Flamme, wäscht darauf mit Wasser aus, um das Kochsalz zu entfernen und färbt dann, z. B. mit Methylviolett 5 B. Das unmittelbare Ausstreichen der Kultur ist ungeeignet, weil die rasch eintrocknende Masse zu dick und zu ungleichmäßig aufgetragen wird; etwas bessere, aber auch nur wenig befriedigende Ergebnisse liefert das Ausstreichen mit einem sterilen Pinsel. In den Präparaten fallen zunächst die Stellen auf, wo sich Kochsalzkristalle gebildet hatten; sie erscheinen als freie quadratische Flächen innerhalb der dazwischen mehr oder weniger gleichmäßig verteilten oder um die früheren Kristalle herum angesammelten Bakterien (Tafel I, Abb. 2).

Diese selbst geben sich als Stäbchen zu erkennen. Ihre Dicke beträgt 0,5 bis 0,8 μ. Die Länge ist sehr veränderlich und von der Beschaffenheit des Nährbodens abhängig. In den roten Tropfen, die sie dicht zusammengedrängt enthalten, sind sie verhältnismäßig kurz, meist 2 bis 5, mitunter aber bis 10 μ lang (Tafel I, Abb. 3). In flüssigen Nährböden, insbesondere in der Flüssigkeit in den oben erwähnten Salzschalen, bilden sie teilweise sehr lange Fäden; Längen bis zu 45 μ wurden gemessen (Tafel I, Abb. 4). In älteren Kulturen, zumal auf Pferdeserum, verändern sie ihre Gestalt und erscheinen unregelmäßig, rundlich, oval oder selbst polyëdrisch, zum Teil nicht länger als dick und fast wie Kokken (Tafel I, Abb. 5). Diese Bildungen dürften denen entsprechen, die man, ohne damit ihrem Wesen näherzukommen, als Involutionsformen bezeichnet hat. Es wurden Längen von 1,7 bis 2,7 und Dicken von 1 bis 1,5 μ gemessen. Von der roten Farbe, die man an größeren zusammengehäuften Mengen der Bazillen auch unter dem Mikroskop noch deutlich als blaßrötlichen Schein erkennen kann, ist an den in Kochsalzlösung freigewordenen Einzelzellen nichts zu sehen. Der Farbstoff muß aber in den Zellen noch enthalten sein, da er, wie die Beobachtung der Kulturen auf Agar oder Serum lehrt, aus den lebenden Zellen nicht herausdiffundiert. Gegen Gram-Färbung sind die Stäbchen ausgeprägt negativ. Sie wurden auf demselben Objektträger gleichzeitig mit deutlich Gram-positiven Staphylokokken gefärbt. Näheres unten unter *Sarcina.*

Die in flüssiger Umgebung befindlichen, z. B. die in den oben erwähnten Salzschalen wachsenden oder die aus den Tonplattenkulturen in gesättigte Kochsalzlösung übertragenen Bazillen, zeigen eine pendelnde Bewegung, die stärker ist, als daß man annehmen möchte, daß sie nur auf Molekularbewegung zurückzuführen wäre. Allerdings ist eine merkliche Fortbewegung kaum festzustellen. Es war daher erwünscht, zu ermitteln, ob Geißeln vorhanden sind. Ich strich bewegliche Bakterien aus einem

Heuaufguß und die in gesättigter Kochsalzlösung verteilten Klippfischbazillen rasch nebeneinander auf demselben Deckglas aus, tötete sie noch naß durch Osmiumdämpfe, behandelte sie nach dem Antrocknen mit schwacher alkoholischer Jodlösung, wusch mit Alkohol, zog sie nach dem Abtrocknen in üblicher Weise durch die Flamme, wusch dann mit destilliertem Wasser das Kochsalz aus und ließ darauf die Geißelfärbung folgen, die im wesentlichen nach der Zettnowschen Methode[1]) ausgeführt wurde. Herr Prof. Dr. H. C. Plaut vom Institut für Pilzforschung am Eppendorfer Krankenhaus war so liebenswürdig, mir das Verfahren zu zeigen und auch selbst Färbungen vorzunehmen. Wir kamen übereinstimmend zu dem Ergebnis, daß keine Geißeln vorhanden sind, da sie auch in solchen Präparaten, wo die beweglichen Heubakterien sie deutlich zeigten, durchaus fehlten. Die Bewegung kann deshalb wohl nur auf Molekularbewegung beruhen[2]).

Bei der pendelnden Bewegung der Stäbchen fällt es auf, daß das jeweilig obere Ende ein glänzendes Körperchen zu tragen scheint. An horizontal liegenden Stäbchen oder Fäden und in gefärbten Präparaten ist aber von besonderen Gebilden nichts zu sehen. Es kann sich daher nicht um Sporen handeln. Ich sehe die Erscheinung vielmehr als eine Folge der auf Totalreflexion des Lichts in den optisch dichteren Stäbchen beruhenden Zusammenhaltung der Lichtstrahlen an, die sich in ähnlicher Weise an den Rändern von Glasscheiben oder am Ende von Glasstäben beobachten läßt, und die auch das glänzende Aussehen von Bastfasern oder von Kollenchymzellwänden in nicht ganz dünnen Querschnitten durch Pflanzengewebe erklärt.

Die Veränderungen, welche die Bakterien durch das Wasser erfahren, kann man auch an gefärbten Präparaten nachweisen. Wenn man ein Präparat nach dem Antrocknen der ausgestrichenen Bakterien zunächst kräftig anhaucht und es dann erst mit Jod und in der oben beschriebenen Weise weiter behandelt und färbt, sieht man die Bakterien in eine krümelige Masse verwandelt, in der die durch die Feuchtigkeit gleichfalls veränderten Kochsalzkristallisationen jetzt als sternförmige Ausbreitungen erscheinen. Der Unterschied fällt schon bei schwacher Vergrößerung auf. Bedeckt man beim Anhauchen die eine Hälfte des Präparats mit einem Deckglas,

---

[1]) Vgl. Strasburger, Das botanische Praktikum, 5. Aufl., S. 712 (1913).

[2]) Anmerkung. Neben den beweglichen Bakterien waren in dem Heuaufguß auch kleine Flagellaten (eine *Monas*-Art) vorhanden, deren Geißeln aus einem verhältnismäßig sehr dicken, sich stark färbenden Hauptfaden und beiderseits daransitzenden kurzen und zarten Seitenzweigen bestanden, die etwa wie die Fiederchen einer Feder angeordnet waren. Ich hatte noch nicht Zeit, diese auffällige Erscheinung weiter zu verfolgen. Wie ich inzwischen sehe, hat bereits A. Fischer (Pringsheims Jahrb. XXVI, 187 [1894]) ähnliche Bildungen beschrieben.

so gelingt es, in demselben Präparat veränderte und unveränderte Bakterien gleichzeitig sichtbar zu machen. Auf der einen Seite einer Grenzzone findet man die unveränderten Bazillen scharf begrenzt und kräftig gefärbt, die freien Quadrate, wo Salzkristalle gelegen haben, umgebend, auf der andern Seite die gleichfalls stark gefärbte, aber völlig formlose krümelige Masse der zerfallenen Zellen, deren Gesamterscheinung durch die Neukristallisation des Salzes bestimmt wird. In der Grenzzone erscheinen die Bakterien blaß gefärbt, meist etwas vergrößert, verschwommen und mehr und mehr undeutlich werdend.

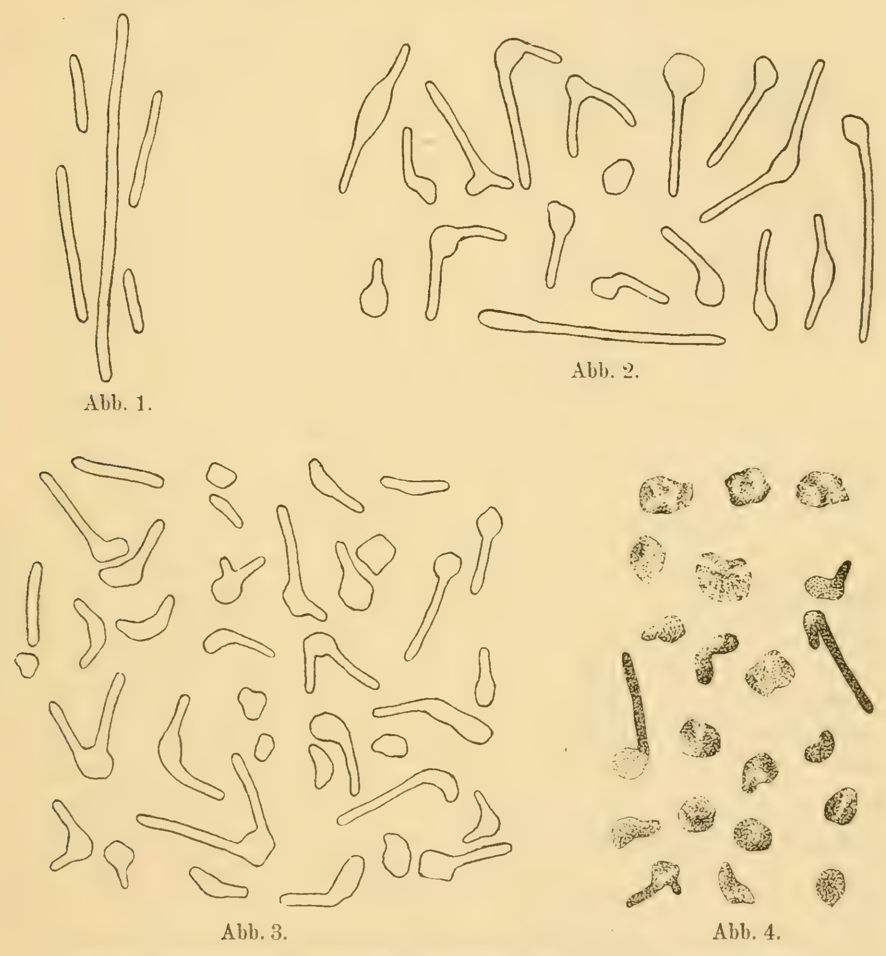
Auf welche Weise die Veränderung und Zerstörung der Bakterien im einzelnen verläuft, ist aber auf diese Weise nicht zu erkennen. Dies festzustellen, gelang erst später nach einer Reihe vergeblicher Versuche. Am geeignetsten für diesen Zweck erwiesen sich Kulturen in Kochsalz, das mit Fischauszug oder Fischabkochung getränkt war. Es wurde bereits darauf hingewiesen, daß die Stäbchen in diesen Kulturen eine besonders große Länge erreichen. Bringt man einen Tropfen der bakterienhaltenden Flüssigkeit zwischen Deckglas und Objektträger und läßt vom Rande her vorsichtig ein wenig reines Wasser zutreten, so kann man an der Grenzschicht zwischen dem Wasser und der salzhaltigen Lösung die Veränderungen verfolgen. Zwar stört die durch das Mikroskop vergrößerte rasche Strömung die Beobachtung sehr; dennoch gelingt es unter günstigen Umständen, an einer und derselben Zelle die aufeinanderfolgenden Zustände zu sehen. Bequemer ist die Untersuchung an Dauerpräparaten. Man breitet die bakterienhaltige Flüssigkeit auf dem Objektträger ohne Deckglas zu einer sehr dünnen Schicht aus, läßt in diese von einem Rande her eine Spur reines Wasser eintreten und dann das Präparat trocknen. Weiterbehandlung und Färbung werden in der kurz zuvor beschriebenen Weise vorgenommen. In Präparaten dieser Art findet man in der Grenzzone zwischen den unveränderten Bakterien der einen Seite und den völlig zerstörten der andern Seite die verschiedenen Übergangszustände nebeneinander.

Auf die beschriebene Weise wurden die in den Abbildungen wiedergegebenen Bilder gewonnen. Die Abb. 2 im Text enthält freihändige Darstellungen der Veränderungen nach dem Leben, die Abb. 1, 3 und 4 mittels des Zeichenapparats entworfene Zeichnungen nach gefärbten Präparaten. Die Mikrophotographien (Tafel II, Abb. 6, 7 und 8) zeigen das Nebeneinandervorkommen verschieden weit fortgeschrittener Zustände an derselben Stelle eines Präparats. Es sind alle Stadien bis zur fast völligen Verquellung vertreten. Vgl. die Erklärung der Abbildungen.

Das Ergebnis der Untersuchungen läßt sich folgendermaßen zusammenfassen:

Beim Übergang in die Lösung von geringerem Salzgehalt beginnt an irgendeiner Stelle der Membran, die als ein Ort geringster Widerstands-

fähigkeit angesprochen werden muß, ein Aufquellen der Zelle, ob unter Dehnung der Membran oder unter Platzen und Zerreißen derselben, läßt sich bei der Winzigkeit des Objekts nicht erkennen. Die Stelle, wo das



Der rote *Bacillus* des Klippfisches und sein Verquellen in reinem Wasser:
Abb. 1, Unveränderte Stäbchen von verschiedener Länge. Abb. 2 und 3, Anfangszustände der Veränderung. Abb. 4, Endzustände, Stäbchen teilweise fast ganz verquollen. Abb. 1, 3 und 4 mit Zeichenapparat nach gefärbten Präparaten, Abb. 2 freihändig nach dem Leben entworfen. Vergr. $^{2700}/_{1}$.

Aufquellen erfolgt, liegt besonders häufig an dem einen Ende, so daß die Zellen eine nagel- oder stecknadelähnliche Form annehmen. Nicht selten aber liegt sie auch nach der Mitte zu und in diesem Falle stets einseitig, was zur Folge hat, daß das Stäbchen an der betroffenen Stelle mehr oder weniger stark winkelig umknickt; dabei liegt dann offenbar der aus-

gequollene Teil an der äußeren Seite des Winkelscheitels (Abb. 2 und 3 im Text und Tafel II, Abb. 6 und 7). Je nach dem von der Konzentration der umgebenden Flüssigkeit abhängigen Grade der Einwirkung bleibt es bei diesen Veränderungen, oder es werden die ganzen Zellen in Mitleidenschaft gezogen und zu mehr oder weniger rundlichen Kügelchen umgestaltet. Der letzte Schritt ist das völlige Verquellen und Auflösen der Kügelchen (Abb. 4 im Text und Tafel II, Abb. 8).

Wie diese Darstellung wohl erkennen läßt, erfolgt die Veränderung nach Zusatz des Wassers momentan oder innerhalb weniger Sekunden. Es leuchtet nun auch ein, daß angetrocknete Stäbchen, die durch Anhauchen wieder befeuchtet wurden, ein anderes Aussehen zeigen müssen als die in der Nährflüssigkeit veränderten, und daß die Hauchpräparate daher keine Aufklärung über die vor sich gehenden Veränderungen geben können.

Die Empfindlichkeit dieser Bazillen gegen Änderungen des osmotischen Drucks und die Verheerungen, die sie bei Zutritt von Wasser erfahren, geben auch eine Erklärung dafür, warum es erst nach längeren vergeblichen Versuchen und anfangs nur zufällig gelang, Kulturen der roten Bazillen zu erhalten. Wendet man bei dem Verdünnungsverfahren Flüssigkeiten an, deren osmotischer Druck nicht ertragen wird, so sterben die Bazillen ab und die Impfung bleibt ohne Erfolg, oder es entwickeln sich nur solche zufällig vorhandene Verunreinigungen, die an schwächeren Salzgehalt angepaßt oder weniger empfindlich sind. Die große Empfindlichkeit erklärt es wohl auch, daß in den auf die oben beschriebene Weise hergestellten normalen, d. h. also nicht mit Wasser veränderten Präparaten doch fast immer vereinzelte Stäbchen vorkommen, die Veränderungen in dem oben besprochenen Sinne zeigen, d. h. an einem Ende oder auch im ganzen mehr oder weniger angeschwollen, unregelmäßig gestaltet oder verquollen sind (vgl. Tafel I, Abb. 4 und 5).

2. Die rote Sarcina.

Die im voraufgehenden beschriebenen Kulturen waren zum großen Teil gemacht worden, ehe ich Gelegenheit gehabt hatte, die Literatur über die Rotfärbung des Klippfisches kennenzulernen. Nachdem es gelungen war, Bakterien zu isolieren, welche eine dem Rot des Klippfisches gleichende Rotfärbung aufwiesen und die auch auf dem Klippfisch eine entsprechende Rotfärbung hervorriefen, mußte ich glauben, den Organismus der Rotfärbung gefunden zu haben. Zwar waren mir bei der mikroskopischen Untersuchung gelegentlich kokkenartige Bakterien aufgefallen, ich hatte sie aber für Verunreinigungen gehalten. Durch die Angaben von Beckwith und Kellerman über Diplokokken bezugsweise Mikrokokken wurde ich dann aber veranlaßt, genauer auf diese Kokken zu achten.

Nach einer durch die Zeitverhältnisse gebotenen Unterbrechung der Untersuchungen lag mir im Herbst 1918 ein Stück Klippfisch vor, auf dem blaßrosa gefärbte Bakterienhäufchen in großer Menge vorhanden waren. Merkwürdigerweise breiteten sie sich wenig aus, obgleich das Fischstück über ein halbes Jahr in einer geschlossenen Glasflasche aufbewahrt wurde. Auch ging keine Rotfärbung von ihnen auf den Fisch über, sondern die Färbung blieb auf die Bakterienhäufchen beschränkt.

Auf Tonplättchen, die auf Salz mit ungekochtem Fischauszug lagen, gelang es ohne Schwierigkeiten, auch diese Bakterien zur Entwicklung zu bringen. Mit bloßem Auge waren die Kulturen, die daraus hervorgingen, von denen des roten *Bacillus* kaum zu unterscheiden. Sie erschienen nicht so klar und durchsichtig, vielmehr milchig oder käsig trübe, ihre Farbe war zwar sehr ähnlich, aber ein wenig blasser und matter, etwas ins Rosafarbene spielend.

Die mikroskopische Untersuchung ließ diesen Organismus als eine *Sarcina* erkennen (Tafel II, Abb. 10). Man sieht zwar gelegentlich runde Einzelzellen oder Gruppen von nur zwei oder vier Zellen, in der Regel aber sind acht oder mehr rundliche Zellen, nach Würfelecken angeordnet, zu großen würfelähnlichen oder unregelmäßigen Paketen zusammengelagert, ganz in derselben Weise wie bei der bekannten *Sarcina ventriculi*. Die Größe der Einzelzellen schwankt in ziemlich weiten Grenzen, und auch die Größe der Pakete ist dann oft auffällig verschieden. Gefunden wurde 1,5—2,2 μ für die Zellen und bis 15 μ und selbst mehr für die Pakete. Ich möchte zunächst nicht glauben, daß in meinen Kulturen noch zwei verschiedene Arten gemischt enthalten gewesen sind; indessen könnte man dieser Frage gelegentlich noch einmal nähertreten. Irgendwelche Färbung ist an den Einzelzellen oder an den Paketen nicht zu erkennen. Der Farbstoff muß aber auch hier in den Zellen enthalten sein, da er, wie unten noch gezeigt werden wird, völlig unlöslich ist und daher nicht diffundiert.

Im Gegensatz zu dem Verhalten der roten Bazillen ist es bemerkenswert, daß diese *Sarcina* die Übertragung aus kochsalzgesättigter Umgebung in reines Wasser ohne sichtbare Schädigung erträgt. Deshalb gelingt die Herstellung von Präparaten unter Anwendung von reinem Wasser ohne Schwierigkeiten. Mit Methylviolett 5 B und Einschluß in Kanadabalsam sind sehr starke Färbungen zu erreichen. Vorteilhaftere Bilder erhält man durch Einschluß in Glyzeringelatine, die man soweit abkühlen lassen muß, daß sie dem Erstarren nahe ist, weil sie warm den Farbstoff zu sehr auszieht.

Gegen Gram-Färbung verhält sich die *Sarcina* negativ. Die Feststellung dieses Verhaltens machte zunächst einige Schwierigkeiten, da die *Sarcina* leicht einen Rest der blauvioletten Farbe zurückbehielt und nach

dem Gegenfärben mit Fuchsin ziemlich dunkel erschien. Ich erhielt aber zuletzt überzeugende Färbungen, wenn ich in einen breiten Ausstrich Gram-positiver Staphylokokken[1]) *Sarcina*-Ausstriche und gleichzeitig solche des roten *Bacillus* und des unten zu beschreibenden *Micrococcus* hineinbrachte und alle vier Mikroben gleichzeitig behandelte. Des *Bacillus* wegen wandte ich dann zunächst Fixierung mit einer schwachen alkoholischen Jodlösung und erst nach dem Auswaschen mit Alkohol und Abtrocknen das Fixieren mit der Flamme an. Dann wurde das Kochsalz durch Waschen mit Wasser entfernt und darauf erst in der üblichen Weise die Färbung vorgenommen. Die auf diese Weise hergestellten Präparate zeigten den *Staphylococcus* dunkelviolettblau, fast schwarzblau gefärbt, den *Bacillus* hellrot, den *Micrococcus* tiefrot und die *Sarcina* noch einen Grad dunkler, aber doch deutlich rot und von den Staphylokokken auffallend verschieden. Da die Staphylokokken bei diesem Verfahren unmittelbar neben den andern Bakterien liegen, ist der Unterschied leicht und sicher festzustellen.

Die Kulturen auf Tonplatten, die durch Übertragen aus den kleinen blaßroten auf dem Fisch vorhandenen Kolonien erhalten wurden, bestanden ohne weiteres im wesentlichen aus *Sarcina*. In geringer Menge waren kleine Stäbchen zwischen den *Sarcina*-Paketen vorhanden. Es war kaum wahrscheinlich, daß diese Beimengung an der Entstehung der roten Farbe beteiligt sei; doch mußte die Frage durch Versuche geprüft werden. Verdünnungsaussaaten auf Fischagar in Petrischalen ergaben vorwiegend die blaßroten, trüb aussehenden *Sarcina*-Kulturen. Dazwischen fanden sich einzelne klare gelbliche Tropfen, die kleine Stäbchen enthielten. Es geht daraus hervor, daß nicht diese Stäbchen, sondern die *Sarcina* selbst die Träger der roten Farbe sind. Die Stäbchen vertragen aber offenbar, wie die *Sarcina* und der rote *Bacillus*, die Sättigung des Nährbodens mit Kochsalz.

Die Entwicklung der *Sarcina* geht ebenso langsam vonstatten wie die des roten *Bacillus*. Offenbar findet die Hemmung durch das Kochsalz in ganz entsprechender Weise statt. Der langsamen Entwicklung entspricht auch eine lange Haltbarkeit der Kulturen. Einzelne Schalen wurden fast ein Jahr lang oder länger aufbewahrt.

Im wesentlichen wurde die *Sarcina* auf denselben Nährböden zu kultivieren versucht, wie ich sie für den roten *Bacillus* verwendet hatte. Ich berichte im folgenden über den Erfolg im Anschluß an die unter *Bacillus* gegebene Liste. Alle Nährböden waren kochsalzgesättigt.

---

[1]) Die Staphylokokken wurden mir vom Hygienischen Institut zur Verfügung gestellt, ebenso die für die Gram-Färbung erforderlichen Reagentien (Anilinwasser-Methylviolett, Jodjodkalium, Azetonalkohol, Fuchsinlösung) in der im Institut erprobten Zusammensetzung.

1. Tonplatten auf Fischstückchen oder auf Kochsalz, das mit keimfreiem Fischauszug oder mit Fischabkochung getränkt war: Entwicklung gut, Farbe kräftig.
2. Kochsalz, mit keimfreiem Fischauszug oder mit Fischabkochung getränkt: Entwicklung langsam, aber die Flüssigkeit wird zuletzt rosa und enthält *Sarcina*.
3. Fischauszug oder Fischabkochung, kochsalzgesättigt, aber ohne weiteren Zusatz: weißer Bodensatz aus *Sarcina*-Paketen, Flüssigkeit im wesentlichen klar.
4. Agarnährböden: a) mit Fischauszug oder Fischabkochung: gut. Kolonien blasser rot, trüb und undurchsichtig, während die des *Bacillus* tiefer rot, klar und glänzend sind; b) mit Liebigs Fleischextrakt: nicht geprüft; c) mit Pepton, Asparagin und Traubenzucker: sehr schwach; d) mit Salepabkochung: sehr schwach.
5. Albumin: nicht geprüft.
6. Gelatine: nicht geprüft.
7. Pferdeserum mit 1% Pepton und 1% Traubenzucker oder mit Pepton allein: auch für *Sarcina* ausgezeichnet geeignet. Die Kolonien wachsen zu dicken Überzügen heran, die sich nur durch den Mangel an Glanz und die etwas blassere Farbe von denen des *Bacillus* unterscheiden.
8. Mehlbrei (aus Maismehl): a) ohne Zusatz: Entwicklung schwach, aber besser als die des *Bacillus,* es entstehen kräftig rotgefärbte Kolonien; b) mit Fischauszug oder Fischabkochung: Entwicklung sehr kräftig, stark rote Färbung, aber Farbenton etwas anders als beim *Bacillus,* etwas mehr ins Rosafarbene gehend; c) mit Liebigs Fleischextrakt: gut.

Hinsichtlich der Lebensweise der *Sarcina* und der Wege, auf denen der Fisch durch sie in den Betrieben infiziert werden kann, ist die folgende Beobachtung von Interesse. Ende Januar 1919 erhielt ich durch die Fischereidirektion die Nachricht, daß sich ein neues Auftreten der Rotfärbung zeige, und zwar sowohl auf einigen Fischen aus einer großen Sendung Stockfisch (ungesalzener getrockneter Kabeljau) wie auch an der Wand des Lagerraums. Die Färbung auf dem Fisch erwies sich zwar nur als eine Verunreinigung mit einer roten Farbe. Herr Prof. Dr. W. Göhlich vom Chemischen Staatslaboratorium, der die Liebenswürdigkeit hatte, die Masse chemisch zu untersuchen, stellte fest, daß sie aus Eisenoxyd bestand. Es wäre auffällig gewesen, wenn sich auf dem ungesalzenen Fisch eines der roten salzliebenden Bakterien entwickelt hätte. Die rote Masse an der Wand bestand aber tatsächlich wesentlich aus der roten *Sarcina*. Wenn sich dies schon durch die mikroskopische Untersuchung mit großer Wahrscheinlichkeit ergab, so wurde es durch das

Ergebnis einer auf einer Tonplatte angelegten Kultur zur Gewißheit. Es ist anzunehmen, daß die Wände sich durch die vorher daran gelagerten Salzfische mit Salz und Nährstoff durchtränkt hatten und dadurch zu einem geeigneten Nährboden geworden waren. Es mag daran noch die Bemerkung geknüpft werden, daß die *Sarcina* überhaupt gegen die Zusammensetzung der Nährböden weniger empfindlich ist als der *Bacillus*. Dies wird sich bei unten zu besprechenden Kulturen noch des weiteren zeigen.

3. Der rote Micrococcus.

Ein drittes rotes Bakterium wurde von einer der Gipsplatten isoliert, über deren Verwendung zur Herstellung der ersten Kulturen oben berichtet ist. Sie enthielt lebhaft rote Kolonien, die auf Ausbreitungen bräunlich-gelber Bakterien wuchsen. Die Kultur war im November 1916 hergestellt worden und zeigte noch im Oktober 1918 deutlich die roten Kolonien. Da ich nicht alle Kulturen mikroskopisch untersuchen konnte und da die Kolonien in dieser Art des Vorkommens und in der Färbung mit denen der roten Bazillen übereinstimmten, hielt ich sie für den letztgenannten entsprechend. So fand sich erst später gelegentlich, daß der hier vorliegende Organismus von dem *Bacillus* und von der *Sarcina* verschieden ist. Es gelang leicht, ihn zu isolieren. Er wuchs gut auf Tonplatten, die auf mit Fischauszug getränktem Kochsalz lagen, und besonders schön und kräftig gefärbt auf Pferdeserum mit 1 % Pepton und 1 % Traubenzucker oder auch ohne den letzteren. Ebenso ließ er sich auf Maisbrei mit einem Zusatz von Fischauszug, Fischabkochung oder Liebigs Fleischextrakt zur Entwicklung bringen. Die unter *Sarcina* gegebene Zusammenstellung über die Nährböden gilt unverändert auch hier. Das Aussehen der Kulturen war auf allen diesen Nährböden genau dasselbe wie das der *Sarcina*, so daß nur durch mikroskopische Untersuchung entschieden werden konnte, welcher von beiden Organismen vorlag.

Die Zellen sind kugelrund, sie haben einen Durchmesser von 1 bis 1,5 μ. Verteilt man eine Probe einer Kolonie in Wasser, so trennen sich die Zellen teilweise, zum großen Teil aber bleiben sie zu zweien oder zu vieren beisammen. Auch vereinigen sie sich gern zu größeren unregelmäßigen Gruppen, wohl beim Trocknen der Präparate. Veränderungen sind durch das Ausstreichen mit Wasser ebensowenig zu beobachten wie bei der *Sarcina*. Das Verhalten gegen Gram-Färbung ist negativ. Der Nachweis wurde so geführt, daß die Mikrokokken mit Gram-positiven Staphylokokken neben- und übereinander auf demselben Objektträger ausgestrichen und gefärbt wurden, wobei dann die beiden Bakterienarten unmittelbar verglichen werden konnten. Die Staphylokokken waren dunkelblau, die Mikrokokken vom Klippfisch stark rotgefärbt. Vgl. die Angaben unter *Sarcina*.

4. Weitere stark gefärbte Bakterien.

In den Kulturen, die ich im Sommer 1918 aus den vorhandenen roten Kulturen durch Ausstreichen auf Pferdeserum (s. oben) herstellte, kam eine Kolonie von auffallend karminroter Farbe zum Vorschein. Sie erreichte rasch eine Ausdehnung von etwa 2 cm Durchmesser, anscheinend anfangs gefördert durch die Ausbreitung eines Fadenpilzes, der die Bakterien mitnahm und später über ihren Bereich hinauswuchs. Es fiel auf, daß die Oberfläche der Kultur nicht ölig und glänzend, sondern matt war und fast trocken erschien. Die mikroskopische Untersuchung ergab rundlich-ovale Einzelkokken von 0,6—1,2 : 0,5—0,8 μ Größe.

Es wurde versucht, auch diesen Organismus auf den verschiedenartigen Nährböden, die im Verlaufe dieser Untersuchungen benutzt wurden, weiter zu züchten, leider ohne Erfolg. Auch die Übertragung auf, soweit ich es beurteilen konnte, dem ursprünglichen Nährboden gleichartiges Pferdeserum versagte.

Ferner wurde noch ein Organismus von tieforangegelber Farbe gefunden. Da auch bei diesem die Weiterkultur Schwierigkeiten machte und der Farbenton ein wesentlich anderer war, habe ich von einer genaueren Untersuchung Abstand genommen. Es waren kleine rundliche Kokken von 0,5—0,6 μ Durchmesser.

C. Vergleichung der gefundenen Bakterien mit den früher beobachteten.

Die Angaben der älteren Beobachter über die Natur und die Ursache der Rotfärbung des Klippfischs sind verworren und widersprechend. Es muß untersucht werden, ob es möglich ist, sie untereinander und mit den meinerseits gefundenen Tatsachen in Einklang zu bringen.

Einen der *Clathrocystis roseo-persicina,* die nach Farlow die Ursache der Rotfärbung sein und die auch nach Patouillard, Heckel und Beckwith auf dem Klippfisch vorkommen soll, entsprechenden Organismus habe ich nicht gefunden. Nach den Angaben von Zopf kann die *Clathrocystis* auf faulenden tierischen und pflanzlichen Stoffen rosenrote, intensiv blutrote oder violette Überzüge bilden und in süßem sowohl wie in salzigem Wasser leben. Danach wäre es also nicht ganz ausgeschlossen, daß sie gelegentlich auch auf Klippfisch solche Überzüge bildete. Als Ursache der eigentlichen und gewöhnlich auftretenden Rotfärbung des Klippfischs dürfte sie aber nicht in Betracht kommen.

Daß die von mir beobachtete *Sarcina* der *Sarcina morrhuae* Farlows entspricht, halte ich für sehr wahrscheinlich. Diese *Sarcina* soll zwar nach Farlow farblos sein, aber Farlow hat sie nicht kultiviert. Die einzelnen Zellen und Zellenpakete erscheinen auch bei meiner *Sarcina,*

wie bereits oben bemerkt, farblos; größere Mengen beisammen entwickeln aber eine lebhaft rote, oft sogar intensiv rote Farbe, und auf mehreren der mir vorliegenden Klippfischproben (vgl. unten) habe ich diese *Sarcina* bestimmt als den Träger des vorhandenen Rot festgestellt; die kleinen Kolonien saßen als rote Pünktchen oder Tröpfchen dem im übrigen bräunlichgelb gefärbten Fischfleisch auf.

Daß Farlows *Sarcina morrhuae* mit Poulsens *Sarcina litoralis* identisch ist, wie Farlow meint, erscheint mir sehr zweifelhaft, denn erstens sehen die Zeichnungen Poulsens keineswegs aus, als ob sie eine *Sarcina* darstellen, und zweitens ist der Nährboden, auf dem *Sarcina litoralis* gefunden worden ist, doch ein wesentlich anderer.

Mégnins *Coniothecium Bertherandi* und Layets sarkodenartige Organismen könnten vielleicht der *Sarcina* entsprechen, wenngleich die Beschreibungen und namentlich die völlig falsche Größenangabe des *Coniothecium* dies nur erraten lassen. Johan-Olsens *Sarcina rosacea* hat wesentlich kleinere Zellen.

Aus Høyes wiederholten Veröffentlichungen ein klares Bild zu erhalten, macht Schwierigkeiten. In der Arbeit von 1904 erwähnt er die rote *Sarcina,* die er für eine der Ursachen des Verderbens der Klippfische hält. Gleichzeitig und später beschreibt er Formen der noch wenig bekannten Gattung *Sarcinomyces,* die in gewissen Stadien eine Verwechslung mit *Sarcina* zuläßt.

Mehr oder weniger *Sarcina*-ähnliche Organismen scheinen auch die Mikrokokken und Diplokokken, die Høye, Beckwith und Kellerman beschreiben, zu sein. Kellerman hält Beckwiths *Diplococcus gadidarum* und Høyes *Micrococcus* sogar für identisch mit *Sarcina litoralis.* Das kann aber schon deshalb nicht richtig sein, weil Beckwith außer dem *Diplococcus* auch diese *Sarcina* beobachtet hat. Außerdem sind die Zellen jener Diplokokken und Mikrokokken wesentlich kleiner als die der *Sarcina,* sie sollen einzeln oder zu zweien vereinigt, nicht in Paketen vorkommen, und sie verhalten sich nach Beckwith und Kellerman gegen Gram-Färbung positiv, während die *Sarcina* nach meinen Beobachtungen Gram-negativ ist. Aus dem letzten Grunde kann auch Kellermans *Micrococcus litoralis,* der nur unerheblich kleiner ist als die *Sarcina,* dieser nicht entsprechen. Die von Beckwith und Kellerman beschriebenen Kokken haben also mit der *Sarcina* nichts zu tun.

Dagegen fällt die Ähnlichkeit auf, welche Beckwiths *Diplococcus gadidarum* bezugsweise Kellermans *Micrococcus litoralis* und *M. litoralis gadidarum* mit dem von mir isolierten roten *Micrococcus* haben, namentlich in bezug auf die Eigentümlichkeit, daß die Zellen vielfach zu zweien, nicht selten auch zu vieren aneinander haften bleiben. Nach der Zellengröße (1 bis 1,5 μ) entspricht mein *Micrococcus* dem *M. litoralis* Kellermans,

während *M. litoralis gadidarum,* der Beckwiths *Diplococcus gadidarum* entsprechen soll, nicht halb so groß ist. Trotzdem muß mein *Micrococcus* von dem Kellermans verschieden sein, da dieser Gram-positiv sein soll, während mein *Micrococcus* negativ ist. Gerade aus diesem Grunde mußte ich es mir angelegen sein lassen, das Verhalten gegen die Gram-Färbung sorgfältig und durch unmittelbare Vergleichung mit Gram-positiven Bakterien sicher festzustellen, wie es nach dem oben Mitgeteilten geschehen ist.

Auch hinsichtlich der Bazillen läßt sich kein sicheres Urteil gewinnen. Edingtons *Bacillus rubescens* stimmt der Größe nach mit dem von mir gefundenen *Bacillus* überein. Auch fällt die Angabe auf, daß er auf Mehlbrei, allerdings anscheinend ohne Zusatz von Fischauszug, gut zur Entwicklung kommt und stark rot wird, während andere Nährböden wenig geeignet sind. Aber daraus allein läßt sich die Übereinstimmung nicht herleiten, um so weniger, als Edington keinerlei Andeutungen über die nähere Zusammensetzung dieses Mehlbreinährbodens macht, insbesondere darüber nicht, ob der Nährboden salzhaltig war und in welchem Grade oder nicht. Gegen die Übereinstimmung spricht die Angabe Edingtons, daß sowohl in den Stäbchen wie in den längeren Fäden Sporen gebildet werden. Auch die Beschreibung der auf Agar wachsenden Kulturen paßt schlecht zu dem Aussehen des von mir gefundenen *Bacillus,* wenn er auf Agar wächst. Edington sagt darüber: „On Agar-Agar it does not succeed well at the ordinary temperature, but if incubated it forms large films over the whole surface of a greyish colour, and which begets the appearance seen in an oil-painted surface which has been exposed to the sun, i. e. cracked and blistered." Kulturen meines *Bacillus* auf Agar sahen, wenn sie zusammenflossen, wie eine frischlackierte Oberfläche aus, nicht zersprungen oder zerrissen und nicht grau, sondern immer deutlich rot, oft sogar stark rot. Sonstige Merkmale, die genügend kennzeichnend wären, erwähnt Edington nicht. Es liegt also kein zureichender Grund vor, anzunehmen, daß der von mir gefundene *Bacillus* dem *Bacillus rubescens* Edingtons entspräche.

Le Dantec hat nacheinander zwei angeblich verschiedene Bazillen beschrieben und erst den einen, später den andern für die Ursache der Rotfärbung erklärt. Ihrer Länge nach könnten beide dem von mir isolierten *Bacillus* entsprechen; die Dicke wird nicht angegeben. Beide sind schwer zur Entwicklung zu bringen und von besonderen Bedingungen des Nährbodens abhängig. Der erste, der „rote *Bacillus* von Neufundland", *Bacillus Danteci* Krause, trat in ähnlicher Weise, wie es auch in meinen Kulturen vorkam (vgl. S. 30), in Form roter Tropfen auf Kolonien weißlicher Bakterien auf. Er entwickelte sich schlecht und ohne merkliche Rotfärbung in flüssigen Nährböden. An dem einen Ende der Stäbchen soll

fast immer eine glänzende Spore vorhanden gewesen sein. An diesen Umstand wurde ich lebhaft erinnert, wenn ich meine Bazillen in Salzlösung beobachtete. Es ist aber oben bereits auseinandergesetzt worden, daß die glänzenden Punkte in meinen Kulturen keine Sporen sind. Echte Sporen habe ich überhaupt nicht gefunden. Le Dantec berichtet aber ferner noch, daß er sich der Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen hohe Wärmegrade bedient habe, um Reinkulturen herzustellen. Daraus wäre zu schließen, daß doch Sporen vorhanden gewesen sind. Danach müßte also „der rote Neufundländer" von dem mir vorliegenden *Bacillus* verschieden sein. Der zweite *Bacillus* Le Dantecs, der „Mikrobe der Klippfischrotfärbung", stimmt, soweit Vergleichsmerkmale vorliegen, noch mehr mit dem von mir isolierten überein. Er kommt wie dieser auf Kochsalzübersättigten Nährböden ohne weiteres zur Entwicklung; er ist wie dieser Gram-negativ und bildet keine Sporen. Abweichend ist die Angabe, daß er auf flüssigem Nährboden (Bouillon) nach 5 bis 10 Tagen einen roten Schleier hervorbringt, was ich nicht beobachten konnte. Über das Verhalten zu Wasser hat Le Dantec keine Beobachtungen gemacht. Wenn sich auch Sicheres nicht sagen läßt, so halte ich es doch für sehr wohl möglich, daß der von mir isolierte *Bacillus* dem zweiten *Bacillus* von Le Dantec, dem „microbe du rouge de morue" entspricht. Wenn nicht Le Dantecs eigene Äußerungen dem entgegenständen, könnte man sogar vermuten, daß auch der erste *Bacillus* derselbe gewesen wäre.

Ziemlich rätselhaft bleiben noch Peirces kokkenartige Bazillen und Le Dantecs „Coccus du rouge de morue". Nach seinen Beschreibungen, den Abbildungen seiner Kulturen und dem Vorkommen auf Salz könnte man annehmen, daß Peirce eine der obigen rotgefärbten Bakterienarten vor sich gehabt hat. Mehr kann aber nicht festgestellt werden; denn die angegebenen Maße passen weder auf den *Bacillus*, noch auf die *Sarcina*, genauere Beschreibungen und Abbildungen der Zellen, aus denen man sichere Schlüsse ziehen könnte, sind nicht gegeben, und die Angabe, daß der rote Farbstoff aus den Kolonien herausdiffundiert, widerspricht den Erfahrungen an den von mir beobachteten Bakterien. Auch Le Dantecs *Coccus* hat Maße, die erheblich über die der *Sarcina* hinausgehen.

Die Ergebnisse der vorstehenden Betrachtungen fasse ich folgendermaßen zusammen:

1. Die von mir gefundene *Sarcina* entspricht den auch von den früheren Beobachtern, insbesondere von Farlow, angegebenen als *Sarcina* bezeichneten Bakterien. Sie ist eine echte *Sarcina* und hat mit den von Beckwith und von Kellerman beschriebenen Diplokokken und Mikrokokken nichts zu tun. Ich wähle für sie den von Farlow gegebenen Namen ***Sarcina morrhuae,*** da ich mich nicht überzeugen kann, daß Poulsens *Sarcina litoralis* derselbe Organismus ist.

2. Der rote *Micrococcus* stimmt nach Größe und Gestalt mit den von Kellerman als *Micrococcus litoralis* bezeichneten Kokken überein. Da er aber Gram-negativ ist, muß er, falls nicht Kellermans Angabe fehlerhaft ist, von *M. litoralis* verschieden sein und daher auch anders benannt werden, zumal der von Kellerman gegebene Name auf Grund einer falschen Annahme gebildet worden ist. Ich nenne ihn **Micrococcus (Diplococcus) morrhuae.**
3. Der rote *Bacillus* entspricht mit ziemlicher Wahrscheinlichkeit dem zweiten der von Le Dantec beschriebenen Bazillen. Ob er Beziehungen zu dem ersten *Bacillus* Le Dantecs (*Bacillus Danteci* Krause) sowie zu Edingtons *Bacillus rubescens* hat, läßt sich nicht erweisen. Da Le Dantec seine Bazillen nur französisch benannt hat, nenne ich ihn, seine hervorstechendsten Eigenschaften kennzeichnend, **Bacillus halobius ruber.**
4. Wegen der mehrfachen Unstimmigkeiten zwischen den Angaben der früheren Beobachter und meinen eigenen Befunden bleibt die Frage künftig zu erörtern, ob es außer den drei oben beschriebenen noch weitere Bakterien gibt, welche die Vorliebe für stark salzhaltige Nährböden mit der Erzeugung lebhaft roter Farbstoffe vereinigen und dabei gelegentlich auf dem Klippfisch vorkommen. Die oben besprochenen Angaben der früheren Beobachter wären in diesem Sinne nachzuprüfen. Namentlich auf Beckwiths *Diplococcus gadidarum* und die Bazillen von Peirce ist zu verweisen, die ihrer Größe nach keiner der oben beschriebenen Arten entsprechen können. Mir selbst scheint in den karminroten ovalen Kokken, die ich leider nicht genauer untersuchen konnte, bereits ein weiterer derartiger Organismus vorgelegen zu haben.

D. Die Anpassung an hohen Salzgehalt.

Besonders bemerkenswert ist die Erscheinung, daß diese Bakterien auf Nährböden von hoher Salzkonzentration leben. Daß die Kolonien mitunter unmittelbar auf den aus dem Nährboden ausgeschiedenen Salzkristallen sitzen, wurde schon erwähnt.

Bekanntlich findet Kochsalz als ein die Entwicklung der Mikroorganismen hemmendes und daher fäulniswidriges und konservierendes Mittel vielfache Anwendung. Die Wirkung dürfte, wenigstens zum Teil, auf dem hohen osmotischen Druck stärkerer oder gesättigter Lösungen beruhen. Demgegenüber ist festzustellen, daß gewisse Organismen höhere Salzkonzentrationen ertragen oder sogar bevorzugen.

Man wird zu unterscheiden haben zwischen der Widerstandsfähigkeit gegen Salzlösungen, dem Anpassungsvermögen an stärkere

Konzentrationen und der Bevorzugung stark salzhaltiger Nährböden oder der ausschließlichen Anpassung an solche.

Die Widerstandsfähigkeit gegen Salzlösungen ist namentlich im Hinblick auf die praktisch wichtige Frage vielfach untersucht worden, wie lange gewisse als schädlich bekannte Bakterien beim Einsalzen des Fleisches lebensfähig bleiben. Es liegen Mitteilungen vor von Koch[1]), de Freitag[2]), Stadler[3]), Peterson[4]), Lewandowsky[5]), Müller[6]), Weichel[7]), Serkowski und Tomczak[8]), v. Karaffa-Korbutt[9]), Reimers[10]) usw.

Im allgemeinen tritt auf salzhaltigen Nährböden eine starke Hemmung der Entwicklung ein, auch schon bei schwächerem Salzgehalt. Abtöten der Bakterien erfolgt aber selbst in konzentrierten Lösungen oft erst nach mehreren Wochen oder nach Monaten. Noch wesentlich länger widerstehen Sporen. Bei den Untersuchungen von Müller waren sie nach zwei Jahren noch lebensfähig.

Von Anpassungsvermögen kann man bei solchen Organismen reden, die zwar für gewöhnlich auf salzarmen Nährböden leben, aber imstande sind, auch auf salzhaltigen weiterzukommen. Dies zeigen am leichtesten die gewöhnlichen Schimmelpilze aus der Gattung *Penicillium*. Wenn bei meinen Versuchen Verunreinigungen damit eintraten, so kamen sie trotz der Sättigung des Nährbodens mit Kochsalz zu ansehnlicher Entwicklung. Besonders stark war das Wachstum auf den Pferdeserumnährböden, und es mag immerhin sein, daß deren sonstige Beschaffenheit, vielleicht ihr Gehalt an kräftig wirkenden Nährstoffen, dabei von fördernder

[1]) Über Desinfektion. Mitteil. a. d. K. Gesundheitsamte I, 234 (1881).

[2]) Über die Einwirkung konzentrierter Kochsalzlösungen auf das Leben der Bakterien. Archiv f. Hygiene XI, 60 (1890).

[3]) Über die Einwirkung von Kochsalz auf Bakterien, welche bei der sog. Fleischvergiftung eine Rolle spielen. Archiv für Hygiene XXXV, 40 (1899).

[4]) Experimentelle Untersuchungen über das Konservieren von Fisch und Fleisch mit Salz. Archiv für Hygiene XXXVII, 171 (1900).

[5]) Über das Wachstum von Bakterien in Salzlösungen von hoher Konzentration. Archiv für Hygiene IL, 47 (1904).

[6]) Über die Behinderung der Fäulnis in Organen durch Kochsalz und die Einwirkung von Kochsalz auf die Vitalität pathologischer Bakterien in tierischen Geweben. Zeitschr. für Infektionskrankheiten der Haustiere VII, 30 (1910).

[7]) Über die Einwirkung von Kochsalz auf Bakterien aus der Gruppe der Fleischvergiftungserreger. Arb. aus d. K. Gesundheitsamt XXXIV, 247 (1910).

[8]) Über den Einfluß des Kochsalzes auf die Bakterien der Fleischvergiftung. Zeitschr. f. Untersuch. der Nahrungs- u. Genußmittel XXI, 211 (1911).

[9]) Zur Frage des Einflusses des Kochsalzes auf die Lebenstätigkeit der Mikroorganismen. Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten LXXI, 161 (1912).

[10]) Über die keimtötende Kraft des Kochsalzes gegenüber dem *Bacillus paratyphosus* B. und dem *B. enteridis* Gärtner. Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene XXIII, 1 ff. (1912).

Bedeutung ist. Auch eine Anzahl Bakterien, die nicht genauer untersucht wurden, kam auf den stark salzhaltigen Nährböden zu mehr oder weniger reichlicher Entwicklung.

Über mehrere an die Anpassung sich anschließende Fragen liegen bereits Untersuchungen vor.

Nach A. Fischer[1]) soll die Durchlässigkeit der Bakterien für Salzlösungen dafür entscheidend sein, ob sie sich rasch und ohne Schaden an höhere Konzentrationen gewöhnen. Die permeabelen Bakterien sind danach gegen höhere Konzentration wenig empfindlich.

Organismen, die sich nicht ohne weiteres an höhere Salzkonzentrationen anpassen, können mitunter im Laufe mehrerer Generationen daran gewöhnt werden. Es dürfte eine Auslese der anpassungsfähigsten Individuen stattfinden, die sich unter den veränderten Umständen allein fortpflanzen, wodurch im Laufe der Generationen die Ausbildung einer angepaßten Rasse zustande kommt, in der die neue Eigenschaft gewissermaßen erblich ist.

Eschenhagen[2]) gibt an, daß Pilzkonidien, die auf konzentrierten Nährböden entstanden sind, nur auf konzentrierteren keimen.

Errera[3]) sucht die Anpassung, die *Aspergillus*-Konidien an das Medium, das den Pilz getragen hat, zeigen, auf die Vererbung des Vermögens, osmotisch wirksame Stoffe zu erzeugen (la faculté de produire, en cas de besoin, une plus forte turgescence), zurückzuführen.

Laurent[4]) und Clerfeyt[5]) fanden, daß Hefe sich durch längere Kultur an höheren Salzgehalt des Nährbodens gewöhnen läßt. Es konnte Anpassung an Drucke bis zu 60 und 80 Atmosphären erreicht werden. Mit der Anpassung an hohe Drucke gehen Verlangsamung des Wachstums, Abrundung der Form, Abnahme der Größe, Schwinden der Vakuolen, größere Neigung zur Paketbildung, reichlichere Erzeugung von Glycogen, Verlangsamung der Gärung Hand in Hand. Diese Veränderungen können durch Kultur auf gewöhnlichem Nährboden wieder rückgängig gemacht werden. Entscheidend für die Entwicklung ist nach beiden Autoren nicht der osmotische Druck allein, sondern auch die Art des Salzes, insbesondere der Basis. An Kaliumnitrat oder Kaliumsulfat angepaßte Hefe soll am

[1]) Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl., S. 20 (1902). (Nur die 1. Aufl. gesehen.)

[2]) Über den Einfluß von Lösungen verschiedener Konzentration auf das Wachstum von Schimmelpilzen. Stolp 1889.

[3]) Hérédité d'un caractère acquis chez un champignon pluricellulaire. Bull. acad. r. Belg. 1899, 81.

[4]) Etudes biologiques. Recherches physiologiques sur les levures. Ann. de la soc. belg. de Microsc. Mémoires, t. XIV, 29. (1890). (S. 85.)

[5]) Expériences sur l'accoutumance héréditaire des levures aux solutions salines concentrées. Bull. de la classe des sciences. Acad. royale de Belgique 1901, 337.

besten bei Gegenwart von Kaliumnitrat bezugsweise Kaliumsulfat, und auf Kaliumsalzen überhaupt besser als auf Natrium-, Kalzium- oder Magnesium-Salzen, gewachsen sein.

Eine Bevorzugung stark salzhaltiger Nährböden nicht nur, sondern teilweise sogar eine ausschließliche Anpassung dergestalt, daß die Entwicklung nur bei hohem Salzgehalt zustande kommt, liegt den bisher erwähnten Fällen gegenüber bei den roten Bakterien des Klippfisches vor, namentlich bei dem *Bacillus halobius ruber.* Die im voraufgehenden beschriebenen Versuche haben bereits gezeigt, daß es auf Kochsalz- gesättigten Nährböden, wenn sie im übrigen von geeigneter Beschaffenheit sind, ohne weiteres gelingt, ziemlich reine Kulturen der roten Bakterien zu erhalten, während salzfreie oder salzarme Nährböden versagen. Bestimmter ließ sich dieses Ergebnis durch Nährböden mit abgestuftem Kochsalzgehalt festlegen. Es wurden zu diesem Zwecke Kulturen auf der schräggelegten Agarschicht in Reagenzgläsern gemacht. Daß trotz der vorhandenen Anpassung die Entwickelung außerordentlich langsam vor sich geht, wurde im voraufgehenden bereits hervorgehoben.

1. Versuch. 27 Gläser mit je ca. 7 ccm Maisbrei-Agar und einem Kochsalzzusatz von 0, 1, 2 usw. bis 26 dg. Salzgehalt demnach 0 bis 37 %. Zuerst wurden Glas 26 bis 20 von einer Tonplattenkultur des roten *Bacillus* geimpft, später Glas 19 bis 15 aus 20, die folgenden aus 15 usw. Die Entwicklung war auf den höchsten Konzentrationen (26 bis 20) am kräftigsten und stufte sich nach unten stark ab. Von Glas 8 an abwärts war kein Wachsen mehr festzustellen. Der Nährboden ist nicht besonders geeignet.
2. Versuch. 14 Gläser mit je 5 ccm Agar mit Abkochung von frischem Fisch und Salzzusatz von 0, 1, 2 usw. bis 13 dg (0 bis 26 %). Roter *Bacillus.* Ergebnis: Schwache Entwicklung bei 6 dg beginnend, von 9 an kräftiger, 11 bis 13 stark rot.
3. Versuch. 8 Gläser mit je 5 ccm Nähragar vom Hygienischen Institut [Hefeextrakt als Bouillonersatz] mit Salzzusatz von 1, 3, 5 usw. bis 15 dg (2 bis 30 %). Roter *Bacillus.* Entwicklung nur bei 15 dg einigermaßen kräftig, bei 13 schwach, bis 9 abwärts undeutliche Spuren. Nährboden anscheinend wenig geeignet.
4. Versuch. 7 Gläser mit demselben Nährboden und 2, 4 usw. bis 14 dg Salzzusatz (4 bis 28 %). *Sarcina.* Entwicklung bei 2 und 4 sehr schwach, 6 bis 12 kräftig, 14 weniger stark.

Die Versuche zeigen, daß diese Bakterien unbedingt einen hohen Salzgehalt bevorzugen, aber auch noch bei mittlerem zur Entwicklung kommen, daß dagegen Nährböden ohne Kochsalz oder solche mit niedrigem Kochsalzgehalt für die Entwicklung ungeeignet sind. Die untere Grenze für den *Bacillus* liegt, soweit die wenigen Versuche schließen lassen, etwa

bei 12 % Salzgehalt. Ihn stufenweise an niedrigeren Salzgehalt zu gewöhnen, scheint nicht möglich zu sein. Die *Sarcina* wächst noch auf Nährboden von geringerem Gehalt. Anscheinend ist auch die sonstige Zusammensetzung der Nährböden auf die Lage des Minimums, bei dem noch Wachsen zustande kommt, von Einfluß.

Die Anpassung an hohen Salzgehalt bedingt eine gleichzeitige Anpassung an hohen osmotischen Druck. Die Bakterienzelle muß entweder imstande sein, beliebige Salzmengen durchzulassen, so daß sich in der Zelle dieselbe Salzkonzentration herstellt, wie sie außen vorhanden ist, oder die Zelle muß andere osmotisch wirksame Stoffe erzeugen, die einen Druck hervorbringen, der dem Außendruck das Gleichgewicht hält. Die erste dieser Möglichkeiten ist wohl die wahrscheinlichere. Ob die Angelegenheit damit geklärt ist, ist schwer zu sagen. Bestimmter läßt sich die Frage beantworten, ob das Kochsalz hinsichtlich seiner osmotischen oder seiner sonstigen Wirkung auf die Bakterienzelle durch andere Stoffe mehr oder weniger ersetzt werden kann. Es wurden Versuche ähnlich den eben beschriebenen angestellt, bei denen dem von der höchsten Konzentration abwärts sinkenden Kochsalzgehalt steigende Zusätze einer andern osmotisch wirksamen Substanz entsprachen. Da es sich zunächst nur um Vorversuche handeln sollte, so wurde nicht Wert darauf gelegt, die Salzmengen zu berechnen und genau abzuwägen, die zur Herstellung desselben osmotischen Druckes bei allen Versuchen erforderlich gewesen wären. Leider unterblieben die genaueren Versuche infolge des eintretenden Mangels an geeigneten frischen Fischen. Klippfisch ist wegen des Salzgehalts nicht verwendbar, und die Abkochungen der damals zur Verfügung stehenden frischen Fische schienen dem *Bacillus* nicht zu behagen, so daß einige Versuchsreihen ganz ohne Ergebnis blieben. Bisher haben anderweitige Arbeiten die Wiederaufnahme der Versuche gehindert. Damit der in dem Verfahren begründete Fehler berücksichtigt werden kann, habe ich die Kochsalzmengen berechnet, welche den zugefügten Mengen der andern Salze äquimolekular sind und die der gesamten Salzmenge äquimolekulare Kochsalzmenge bei jedem Versuche angegeben. Die möglicherweise verschiedene Jonisierung der Salze, die sich unter den vorliegenden Umständen schwer beurteilen läßt, ist nicht berücksichtigt.

5. Versuch. Natriumnitrat. Roter *Bacillus*. 12 Gläser mit je 5 ccm Agar mit Fischabkochung und zusammen 30 % Salzzusatz. Die Salzmengen sind in Dezigramm in den beiden folgenden Zeilen im einzelnen angegeben. Die dritte Zeile gibt die der gesamten Salzmenge äquimolekulare Kochsalzmenge an. Ebenso bei den folgenden Versuchen.

$NaCl$ . . .	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
$NaNO_3$ . .	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2
Äqu. . . .	11	11,2	11,6	11,9	12,2	12,5	12,8	13,1	13,5	13,8	14,1	14,4

Ergebnis: Keine Entwicklung in NaCl 2 bis 7, Spuren in 6 und 8, kräftige Entwicklung in 9 bis 13.

6. Versuch. Natriumnitrat. Roter *Bacillus*. 14 Gläser, derselbe Nährboden. Salzzusatz 26 %.

NaCl	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
$NaNO_3$	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
Äqu.	9,0	9,2	9,6	9,9	10,2	10,5	10,8	11,1	11,5	11,8	12,1	12,4	12,7	13

Ergebnis: Keine Entwicklung in Na Cl 0 bis 5, schwache in 6, steigende in den folgenden, besonders starke in 11 und 12.

7. Versuch. Kaliumchlorid. Roter *Bacillus*. 12 Gläser, derselbe Nährboden. Salzzusatz 30 %.

Na Cl	2	3	4	5	6	7,5	9	10	11	12	13
KCl	13	12	11	10	9	7,5	6	5	4	3	2
Äqu.	12,2	12,5	12,7	12,9	13,1	13,4	13,7	14	14,2	14,4	14,6

Ergebnis: Keine Entwicklung in Na Cl 2, nur Spuren in 3 und 4, wenig in 5, reichlich in 6 bis 13.

8. Versuch. Natriumnitrat. *Sarcina*. 9 Gläser, Agar mit Fischabkochung. Salzzusatz 32 %.

NaCl	0	2	4	6	8	10	12	14	16
$NaNO_3$	16	14	12	10	8	6	4	2	0
Äqu.	11	11,7	12,3	12,9	13,5	14,1	14,8	15,4	16

Ergebnis aus nicht aufgeklärter Ursache unklar: Keine Entwicklung in NaCl 0 bis 4 und 10 bis 14, reichliche in 6, 8 und 16.

9. Versuch. Kaliumnitrat. *Sarcina*. 9 Gläser, derselbe Agar, Salzzusatz 32 %.

NaCl	0	2	4	6	8	10	12	14	16
KNO_3	16	14	12	10	8	6	4	2	0
Äqu.	9,3	10,1	11,0	11,8	12,6	13,5	14,3	15,2	16

Ergebnis: Keine Entwicklung in Na Cl 0 bis 12, reichliche in 14 und 16.

10. Versuch. Kaliumchlorid. *Sarcina*. 9 Gläser, derselbe Agar, Salzzusatz 32 %.

NaCl	0	2	4	6	8	10	12	14	16
KCl	16	14	12	10	8	6	4	2	0
Äqu.	12,6	13	13,5	13,9	14,3	14,7	15,2	15,6	16

Ergebnis: Keine Entwicklung in Na Cl 0 bis 4, deutliche in 6 und 8, reichliche in 10 und 12, etwas schwächere in 14 und 16.

Den Versuchen 8—10 entsprechende Versuche mit dem roten *Bacillus* blieben völlig ohne Ergebnis. Offenbar war die für diese 6 Versuche verwendete Fischabkochung für den *Bacillus*, der weit empfindlicher ist als die *Sarcina*, ungeeignet.

Wenn nur der osmotische Druck des Nährbodens für die Entwicklung der Bakterien entscheidend wäre, hätte bei diesen Versuchen in allen Gläsern annähernd dieselbe Entwicklung eintreten müssen. Da das nicht der Fall war, muß eine spezifische Wirkung der einzelnen Salzarten vorhanden sein, d. h. es müssen das Kochsalz oder seine Bestandteile oder die Jonen, in die es dissoziiert ist, nicht durch andere Salze oder deren Bestandteile vertreten werden können. An und für sich scheinen die drei geprüften Salze $Na\,NO_3$, $K\,NO_3$, $K\,Cl$ nicht giftig oder wesentlich hemmend auf die Entwicklung der Bakterien einzuwirken, wenigstens nicht in mittleren und schwächeren Konzentrationen, da der *Bacillus* noch bei Zusätzen von 7 dg $Na\,NO_3$ (14 %) oder 10 dg $K\,Cl$ (20 %), die *Sarcina* noch bei Zusätzen von 2 dg KNO_3 (4 %) oder 10 dg $K\,Cl$ (20 %) zur Entwicklung kam. Dagegen scheinen allerdings die stärkeren Konzentrationen in gewissen Fällen stark zu hemmen.

Dieses Ergebnis zeigt sich noch deutlicher in einer Reihe weiterer Versuche, bei denen die Na Cl-Konzentration für alle Gläser gleichgenommen und nur der Gehalt an den andern Salzen abgestuft wurde.

11. Versuch. Natriumnitrat. *Sarcina.* 9 Gläser mit je 5 ccm Agar mit Abkochung von frischem Fisch und je 12 dg Na Cl. Dazu:

$Na\,NO_3$	0	2	4	6	8	10	12	14	16	dg
Äqu.	12	13,4	14,8	16,1	17,5	18,9	20,3	21,7	23,0	„

Ergebnis: reichliche Entwicklung bei $Na\,NO_3$ 0 und 2, schwächere bei 4 bis 8, schwache bei 10 und 12, keine bei 14 und 16.

12. Versuch. Kaliumnitrat. *Sarcina.* 9 Gläser, derselbe Nährboden, Zusätze außer je 12 dg Na Cl:

$K\,NO_3$	0	2	4	6	8	10	12	14	16
Äqu.	12	13,2	14,3	15,5	16,6	17,8	19,0	20,1	21,3

Ergebnis: Kräftige Entwicklung bei $K\,NO_3$ 0 bis 4, gute aber weniger reichliche bei 6 bis 14, schwache bei 16.

13. Versuch. Kaliumchlorid. *Sarcina.* 9 Gläser, derselbe Nährboden, Zusätze außer je 12 dg Na Cl:

K Cl	0	2	4	6	8	10	12	14	16
Äqu.	12	13,6	15,2	16,7	18,3	19,9	21,5	23,0	24,6

Ergebnis: Kräftige Entwicklung bei KCl 2 bis 6, keine Entwicklung bei 8 bis 14 und auffälliger Weise bei 0.

Drei Versuchsreihen mit dem roten Bazillus in Röhren, die mit demselben Nährboden und denselben Zusätzen beschickt waren, blieben ergebnislos, da der *Bacillus* nicht wuchs.

Danach würde *Sarcina* also etwa 24 % Natriumnitrat, 28 % Kaliumnitrat, 12 % Kaliumchlorid ertragen.

Wie schon angedeutet, bedürfen diese Versuche, die nur Vorversuche sein sollten und zum Teil mißlungen sind, der Wiederholung und Ergänzung.

Insbesondere können die Zahlen auf Genauigkeit keinen Anspruch machen. Einstweilen lassen sich aber doch folgende Schlüsse daraus ziehen:

Das Gedeihen der salzliebenden Bakterien hängt nicht von dem osmotischen Druck des Nährbodens allein ab, sondern auch von einer spezifischen Wirkung der Salze oder ihrer Jonen. Natrium kann nicht durch Kalium ersetzt werden. Die Ansprüche des *Bacillus* und der *Sarcina* an den Salzgehalt sind verschieden. Der *Bacillus* ist an hohe und höchste Gehalte angepaßt, er läßt sich anscheinend nicht an niedrigere gewöhnen. Die *Sarcina* erträgt höchste Gehalte, gedeiht aber auch noch bei niedrigeren. Kalium und die Nitratgruppe, bezugsweise die Jonen, rufen zwar keine Giftwirkung hervor, hemmen aber das Wachstum bei mittleren und namentlich bei hohen Gehalten.

Über Versuche ähnlicher Art berichtet Lewandowsky[1]), der allerdings nicht mit hochgradig salzliebenden, sondern mit salzertragenden Bakterien gearbeitet hat. Er hält die Wachstumshemmung wesentlich für eine Folge des hohen osmotischen Drucks. Sie wird aber zugleich durch eine spezifische Jonenwirkung beeinflußt, da sich zeigt, daß Natriumsalze stärker hemmen als die entsprechenden Kaliumsalze. Auf Nährböden mit mehr als 25 % Kochsalz fand überhaupt kein Wachstum mehr statt. Insofern weicht das Verhalten dieser Bakterien also wesentlich von dem der salzliebenden ab. Voraufgehende Kultur in stark salzhaltiger Bouillon machte die Bakterien nicht geeigneter für das Wachsen auf hochkonzentrierten Nährböden, als sie vorher waren.

E. Empfindlichkeit gegen Konzentrationsänderungen. „Plasmoptyse.“

Zu dem Anpassungsvermögen an hohe Salzgehalte steht die Empfindlichkeit gegen Konzentrationsänderungen, die sich in so auffälligem Grade bei dem roten *Bacillus* zeigt, in bemerkenswertem Gegensatze.

Wenn Bakterien, die auf Kochsalz-gesättigtem Nährboden gewachsen sind, plötzlich in reines Wasser übertragen werden, so ist das allerdings ein so jäher Wechsel der äußeren Verhältnisse, und es muß damit eine so gewaltsame Störung des Gleichgewichts zwischen dem osmotischen Innendruck und dem Druck der umgebenden Flüssigkeit verknüpft sein, daß das augenblickliche Zerplatzen und Verquellen der Zellen gar nicht überraschen kann, daß man sich vielmehr wundern muß, daß die Sarcinen und Mikrokokken diesen Wechsel ohne sichtbare Veränderung aushalten. Ob die Annahme einer hochgradigen Durchlässigkeit der *Sarcina* für Kochsalz den Unterschied erklären würde, mag dahingestellt bleiben.

[1]) Über das Wachstum von Bakterien in Salzlösungen von hoher Konzentration. Archiv für Hygiene IL, 1904, 47.

Es liegen aber Beobachtungen vor, daß auch weit geringere Druckänderungen verderblich auf Bakterienzellen einwirken. Nach A. Fischer[1]) sollen die bakteriziden Eigenschaften gewisser Sera nicht auf spezifischen Giften beruhen, sondern auf verändertem osmotischem Druck. Fischer fand, daß Änderung des Salzgehalts des Nährbodens um nicht mehr als 2% Veränderungen hervorbrachte, die den von mir beobachteten und oben beschriebenen Verquellungserscheinungen der roten Bazillen durchaus ähnlich sind oder vielleicht ihnen vollkommen entsprechen. Er nimmt an, daß sie die Folge eines erhöhten Innendrucks sind. Es soll ein Teil des Protoplasmas oder auch das ganze an den Stellen, wo die Geißeln entspringen, oder durch Risse, die in der Membran entstehen, ausgepreßt werden, und zwar zunächst in Form von Tröpfchen oder Kügelchen, die aber bald darauf absterben und verquellen. Er bezeichnet die Erscheinung als „Plasmoptyse". Es sollen besonders Stäbchenformen der Veränderung unterliegen, während die Kokken widerstandsfähiger sind. Dies entspricht auch meinen eigenen Befunden.

Daß die von Fischer beobachteten Erscheinungen durch Übertragung der Bakterien in Lösungen von niedrigerem Salzgehalt eintreten können, ist durchaus begreiflich. Für die oben beschriebenen Veränderungen der roten Klippfischbazillen ergab sich diese Erklärung ohne weiteres. Sie läßt auch die größere Widerstandsfähigkeit der Kokkenformen verständlich erscheinen, namentlich weil die im Verhältnis zum Volum weit größere Oberfläche der zylindrischen Stäbchen eine viel raschere Geltendmachung des Druckunterschiedes ermöglicht als die Kugelfläche. Daß die Veränderung bei Fischers Versuchen mehr Zeit in Anspruch nahm, 15 bis 100 Minuten, während sie bei meinen Versuchen augenblicklich eintrat, kann nicht wundernehmen, wenn man die große Verschiedenheit der in Frage kommenden osmotischen Drucke in Betracht zieht.

Auffällig bleibt aber die Angabe Fischers, daß auch die Versetzung der Bakterien in Lösungen von höherem Salzgehalt (von 0,75% in 2%) „Plasmoptyse" hervorrufen soll. Was die Beobachtungen selbst betrifft, so vermag ich darüber nicht zu urteilen. Die Erklärung aber, die Fischer gibt, indem er annimmt und sogar zu berechnen versucht, daß infolge der größeren Oberfläche der Stäbchen ein Überschuß von Kochsalz aufgenommen werde, durch den ein Innendruck entstehe, der über den Druck der Außenflüssigkeit hinausgehe, ist unverständlich, da nach physikalischen Grundsätzen das Eindringen von Kochsalz aufhören muß, sobald der Innendruck denselben Wert erreicht hat wie der Außendruck oder sobald die Konzentration der Salzlösung auf beiden Seiten der Protoplasmahaut die gleiche ist.

---

[1]) Die Empfindlichkeit der Bakterienzelle und das bakterizide Serum. Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten XXXV, 1 (1900).

Wenn die Beobachtungen richtig sind, muß eine andere Ursache gesucht werden. Fischers Erklärung scheint mir auch der an anderer Stelle[1]) von ihm vertretenen Meinung zu widersprechen, daß die widerstandsfähigen Bakterien, zu denen gerade die Kugelformen gehören, die Salzlösung besonders leicht durchtreten lassen.

Schon Arthur Meyer[2]) ist Fischer entgegengetreten. Er geht so weit, die Plasmoptyse für „ein Kind der Phantasie Fischers" zu erklären. Er selbst beobachtete Anschwellungen an den Stäbchen von *Bacillus cylindricus*, bei denen diese durch einen birnförmigen Zwischenzustand in Kugeln übergingen. Die Versuchsbeschreibung läßt nicht erkennen, ob dabei osmotische Kräfte zur Geltung kamen; dagegen deutet Meyer auf Verstöße gegen die Theorie der Osmose hin, die sich in Fischers Arbeit finden. In seiner Erwiderung behauptet Fischer[3]), daß die von Meyer beobachteten Abrundungskugeln durch Säuerung des Nährbodens entstehen und durch Ammoniakdämpfe zurückverwandelt werden können. Er hält daran fest, daß die „Plasmoptyse" ein Vorgang eigener Art sei, der mit Platzen der Membran verknüpft ist. Auch Garbowski[4]) unterscheidet in einer allerdings, wie es scheint, unter Fischers Einfluß entstandenen Arbeit Abrundung und Plasmoptyse als zwei gesonderte Erscheinungen. Die stecknadelähnlichen und die zweibeinigen oder cyclopsartigen, d. h. geknickten Stäbchen sollen etwas anderes sein als die anhangslosen Kugeln; letztere kommen nicht durch Abstreifen der anhängenden Stäbchenmembran zustande. Der kurze Aufsatz von Leuchs[5]) bringt keine wesentlich neuen Gesichtspunkte.

Mit der Auffassung Fischers, daß das Protoplasma durch die Poren der Geißeln oder durch Risse in der Membran ausgepreßt werde, kann ich mich nicht befreunden. Erstens hat der *Bacillus halobius ruber* keine Geißeln, und zweitens sieht man nicht kleinere oder größere Tröpfchen oder Kugeln außerhalb der Zellen als Anhänge an diesen, sondern die Erscheinung macht durchaus den Eindruck eines Aufquellens, das, bald an einer begrenzten Stelle beginnend, bald sogleich das ganze Stäbchen ergreifend, zuletzt zu einer Verquellung der ganzen Zelle führt. Ich stelle mir vor, daß die Wand der Stäbchen mehr oder weniger dehnbar ist, daß das Protoplasma die Zelle ganz erfüllt, und daß der als Träger des osmotischen Druckes anzusehende Zellsaft in winzigsten Tröpfchen oder vielleicht nur

---

[1]) Vorlesungen, 2. Aufl., S. 20.

[2]) Über Kugelbildung und Plasmoptyse der Bakterien. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. XXIII, 349 (1905).

[3]) Über Plasmoptyse der Bakterien. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. XXIV, 55 (1906).

[4]) Plasmoptyse und Abrundung bei *Vibrio proteus*. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. XXIV, 477 (1906).

[5]) Über Plasmoptyse der Bakterien. Münchener med. Wochenschr. LII, 1661 (1905, II).

imbibiert im Protoplasma verteilt ist. Unter diesen Umständen scheint mir die Veränderung selbst nicht allzuschwer verständlich zu sein. Wo Kugeln in den Präparaten vorkamen, waren es Stäbchen, die im ganzen aufgequollen waren. Von Membranresten habe ich in der Nähe dieser veränderten Bazillen nichts finden können. Auch in der fadenziehenden Gallerte, die als Endergebnis der Wasserbehandlung zustande kommt, ist nichts davon zu sehen. Naß läßt sie nur winzigste mikrosomenartige krümelige Bestandteile erkennen, angetrocknet und gefärbt zeigt sie nichts als das oben beschriebene und in Abb. 9, Tafel II dargestellte faden- oder netzförmige Gerinnsel mit mikrosomenartigen Körnchen in den Fäden. Allerdings muß ich bemerken, daß die Bazillen sehr klein sind und die Membranen an der Grenze der Leistungsfähigkeit der Mikroskope liegen würden.

Bei der Durchsicht der Präparate des roten *Bacillus* stelle ich fest, daß fast in allen einzelne Zellen vorhanden sind, die kürzer und dicker oder an einem Ende keulenförmig angeschwollen oder irgendwo mit einer Anschwellung versehen und an dieser Stelle mitunter auch geknickt sind, die also Erscheinungen zeigen, die ganz den oben beschriebenen Veränderungen entsprechen (s. Abb. 3 und 4, Taf. I). Es entsteht die Frage, ob diese Veränderungen schon in der Kultur selbst gelegentlich vorkommen, oder ob sie erst bei der Präparation entstanden sind, die, wie oben bemerkt, nicht gut ohne eine Mischung der Kolonien mit Salzlösung und daher wohl nicht ganz ohne Störungen möglich ist. Die letztere Annahme ist vielleicht einstweilen die wahrscheinlichere.

Als eine Degeneration, als eine Alterserscheinung oder als eine Folge der allmählich ungünstiger werdenden Kulturverhältnisse ist dagegen das Übergehen der Stäbchen in älter werdenden Kulturen, namentlich in denen auf Serum, in Kokken-artige Zustände anzusehen. Diese Gebilde entsprechen wohl dem, was man in anderen Fällen als Involutionsformen bezeichnet hat. Sie bleiben, teilweise wenigstens, lebensfähig. Neuaussaat auf Tonplatten ergab regelmäßig Weiterentwicklung und stellte die normale Wuchsform wieder her.

Ich fasse mein Urteil über die vorliegenden Erscheinungen folgendermaßen zusammen:

> Die der Plasmoptyse Fischers gleichenden Veränderungen an *Bacillus halobius ruber* sind die Folge des hohen osmotischen Druckes in den Zellen, der sich als Überdruck geltend macht, wenn diese in Wasser oder in Salzlösungen von geringerem Gehalt gebracht werden. Ihr Wesen ist nicht ein Ausspritzen des Protoplasmas, sondern ein teilweises oder völliges Aufquellen oder Verquellen der Zellen. Der Druckunterschied ist bei *Bacillus halobius ruber* so groß, daß die Veränderung augenblicklich erfolgt, während die Plasmoptyseerscheinungen Fischers längere Zeit, 15 bis 100 Minuten, in Anspruch nehmen.

Einige Arbeiten, die sich auf verwandte Gegenstände beziehen, seien noch kurz erwähnt. Braem[1]) untersuchte die Einwirkung destillierten Wassers auf pathogene Bakterien. Aufquellen, Auftreten von Flaschen- und Keulenformen. vakuoläre Degeneration, Einkerbungen am Rande, Verlust der Färbbarkeit und ähnliche abnorme Erscheinungen, die teilweise den oben erwähnten mehr oder weniger entsprechen, wurden beobachtet. Nach Matzuschita[2]) ruft dagegen gerade umgekehrt der Kochsalzgehalt des Nährbodens, und zwar bei Gehalten von 3 bis 8 %, gewisse Gestaltsveränderungen an den Bakterien, an Stäbchen sowohl wie an Kokken, hervor. Endlich berichtet Lewandowsky[3]), daß Bazillen in stark salzhaltiger Bouillon ihre Gestalt nicht veränderten.

Nur hingewiesen sei auf den Teil der anschließenden Literatur, der die schon in der ersten Veröffentlichung Fischers angeschnittene Frage nach der Ursache der bakteriziden Eigenschaften gewisser Sera erörtert[4]). Die Beobachter neigen im allgemeinen mehr dazu, spezifische Giftstoffe als Ursache anzunehmen als osmotische Störungen im Sinne Fischers.

F. Die roten Farbstoffe.

Eine zweite gemeinsame und sehr auffällige Eigentümlichkeit der vorliegenden Bakterien ist die Erzeugung des roten Farbstoffs.

Die Farbstoffe der drei Bakterien sind einander in mehreren Beziehungen ähnlich. Der Unterschied im Ton ist so unbedeutend, daß es danach nicht möglich ist, die drei Arten zu unterscheiden. Das verschiedene Aussehen der Kolonien des *Bacillus* einerseits, der *Sarcina* und des *Micrococcus* anderseits beruht hauptsächlich auf dem Grade der Transparenz der Bakterienmasse, nicht oder kaum auf dem Farbenton. Auch insofern besteht Übereinstimmung, als der Farbstoff an die Zellen gebunden ist, er wird nicht aus ihnen heraus ausgeschieden und diffundiert nicht in den

---

[1]) Untersuchungen über die Degenerationserscheinungen pathogener Bakterien im destillierten Wasser. Königsberger Dissertation 1889.

[2]) Die Einwirkung des Kochsalzgehaltes des Nährbodens auf die Wuchsform der Mikroorganismen. Zeitschr. f. Hygiene XXXV, 1900, 495.

[3]) A. a. O.

[4]) Walz, Über die sogenannten bakteriziden Eigenschaften des Blutserums und über ihre Beziehungen zu Assimilationsvorgängen und zu osmotischen Störungen. Baumgartens Arbeiten aus dem Geb. d. patholog. Anat. III, 1 (1899). Hegeler, Über die Ursache der bakteriziden Serumwirkung. Zeitschr. f. Hygiene XXXVII, 115 (1901). v. Lingelsheim, Über die Bedeutung der Salze für die bakterizide Wirkung des Serums. Zeitschr. f. Hygiene XXXVII, 131 (1901). Dietrich, Beruht die bakterienvernichtende Wirkung bakterieller Stoffwechselprodukte nach den von Emmerich und Löw dafür angeführten Beweisen auf proteolytischen Enzymen (Nucleasen)? Arbeiten aus d. Geb. der pathol. Anat. u. Bakt. herausgeg. v. Baumgarten III, 345 (1901).

umgebenden Nährboden. Bei mikroskopischer Untersuchung erscheinen die Einzelzellen farblos; erst größere Mengen dicht zusammengedrängt zeigen merkliche Färbung. Besonders bemerkenswert ist das gleichartige Verhalten gegen konzentrierte Schwefelsäure. Bringt man eine kleine Menge einer frischen Kultur in einen Tropfen dieses Reagens, so umgibt sie sich da, wo die Säure einwirkt, mit einem tiefhimmelblauen Saum, der allerdings nach einigen Minuten wieder verschwindet und einer schmutzig braunvioletten Färbung Platz macht. Abscheidung blauer Kristalle konnte dabei nicht festgestellt werden. Störend ist bei diesem Versuch der unvermeidliche Kochsalzgehalt der Bakterienmasse, der zur Ausscheidung von Blasen von Chlorwasserstoff führt. Auch gegen mehrere andere Reagentien ist das Verhalten gleichartig. Kalilauge bewirkte bei gewöhnlicher Temperatur erst nach 24 bis 48 Stunden merkliches Verblassen. Wasserstoffsuperoxyd oder Salpetersäure zerstören die Farbstoffe rasch. Schwefeldioxyd in wässeriger Lösung verfärbt zunächst in Rosa und zerstört die Farbe erst nach einigen Tagen.

Der einzige, allerdings sehr wesentliche Unterschied, den ich bisher feststellen konnte, besteht in den Löslichkeitsverhältnissen. Der Farbstoff des *Bacillus* läßt sich durch Kochen mit Äthylalkohol oder mit Methylalkohol leicht ausziehen und gibt damit auch bei verhältnismäßig geringer Menge eine schön rotorange gefärbte Lösung. Beim Erhitzen mit Wasser oder mit Propylalkohol löst sich nur wenig Farbstoff auf. Nach dem Eindunsten der alkoholischen oder methylalkoholischen Lösung bleibt neben dem mitgelösten Kochsalz, das sich in Kristallen abscheidet, der Farbstoff in stark roten Tröpfchen zurück. Zu kristallisieren scheint er nicht. Die Tröpfchen lösen sich leicht in Äther, Aceton, Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Benzol, Toluol, Xylol, Petroläther, Benzin, Ligroin, Schwefelkohlenstoff, Nelkenöl, auch in Propylalkohol, aber nur wenig in Wasser. Durch starke (nicht ganz konzentrierte) Schwefelsäure färben sie sich vom Rande her blau wie die Bakterienkolonien selbst. Sie zersetzen sich übrigens leicht und man muß sie möglichst frisch herstellen. Ich habe daher nur eine beschränkte Zahl von Lösungsmitteln prüfen können.

Der Farbstoff der Sarcina scheint dagegen in den gebräuchlichen Lösungsmitteln völlig unlöslich zu sein. Ich habe die Bakterienmasse in Wasser, Methylalkohol, Äthylalkohol, Propylalkohol, Essigäther, Petroleum, Schwefelkohlenstoff, Xylol, Pyridin, Benzol gekocht und sie dann zwei Tage lang in der Flüssigkeit stehen lassen, ohne daß eine merkliche Färbung des Lösungsmittels oder eine Entfärbung der Bakterien eintrat. Ich habe ferner kleine Mengen auf Deckgläser ausgestrichen und diese mehrere Tage eingelegt in Tetrachlorkohlenstoff, Trichloräthylen, Perchloräthylen, Aceton, Amylacetat, Anilin, Nitrobenzol, Nelkenöl, ohne daß eine merkliche Entfärbung sichtbar wurde. Auch Tetrachloräthan, Chloroform, Essigäther

färbten sich nicht, obgleich die Farbe der Bakterien darin ein wenig zu verblassen schien. In Eisessig, Phenol und Kresol fand Entfärbung statt, doch dürften diese Stoffe eher zersetzen als lösen. Ich habe dann noch versucht, den Farbstoff durch Kochen in einem Gemisch von Methylalkohol, Äthylalkohol und Salzsäure bezugsweise Methylalkohol, Äthylalkohol und Kali oder nach voraufgehender Behandlung der Bakterienmasse mit Kali oder mit Salzsäure in Alkohol in Lösung zu bringen, aber gleichfalls ohne Erfolg.

Die meisten dieser Versuche wurden auch mit Kulturen des *Micrococcus* ausgeführt und hatten dasselbe negative Ergebnis. Der Farbstoff des *Micrococcus* ist dem der *Sarcina* offenbar gleich oder sehr ähnlich.

Um den roten Farbstoff des *Bacillus* spektroskopisch untersuchen zu können, habe ich die Bakterienmasse aus einer größeren Zahl von Kulturen gesammelt und im Soxhlet-Apparat mit Alkohol extrahiert. Die im Physikalischen Staatslaboratorium mit freundlicher Hilfe seitens des Herrn Prof. Dr. B. Walter mittels eines großen Spektralapparats ausgeführte Untersuchung der Lösung ergab 3 Absorptionsstreifen im Spektrum, nämlich

1. im Grün, Maximum bei 528 $\mu\mu$, kräftig,
2. im Blaugrün, „ „ 493 „ sehr kräftig,
3. im Blau, „ „ 462 „ schwach.

Die Mitte des ersten Streifens fällt ungefähr mit der Fraunhoferschen Linie E (527 $\mu\mu$) zusammen, die des zweiten liegt vor F (485 $\mu\mu$), die des dritten zwischen F und G (429 $\mu\mu$) näher nach F hin.

Da die Löslichkeitsverhältnisse des roten Farbstoffs des *Bacillus* und das Verhalten gegen Schwefelsäure auf Beziehungen zu den Lipochromen (s. unten) hinzuweisen schienen, versuchte ich dann durch Verseifen eines Teiles der alkoholischen Lösung mit etwas Kali und Ausschütteln der mit Wasser aufgenommenen Masse mit Lösungsmitteln den Farbstoff in reinerer Form zu gewinnen, hatte aber keinen Erfolg. Äther blieb farblos, Toluol färbte sich nur schwach gelblich. Als der Rest der mit etwas Kali versetzten alkoholischen Lösung eingedunstet wurde, schieden sich in dem bräunlichen Rückstand ähnliche rote Tröpfchen aus, wie beim unmittelbaren Eindunsten der Lösung. Das Kali hatte also anscheinend nur wenig eingewirkt. Weitere Versuche mußten aus Mangel an genügend reichlichem Material einstweilen unterbleiben.

Da die Farbstoffe der *Sarcina* und des *Micrococcus* unlöslich sind, machte ich den Versuch, ihre Farbe im auffallenden Licht zu untersuchen. Ich bestrahlte die Kolonien mit direktem Sonnenlicht und benutzte einen Seibertschen Mikrospektralapparat. Es wurde ein dunkler Absorptionsstreifen im Grün gefunden, etwa zwischen 555 und 535 $\mu\mu$, und allgemeine Verdunklung etwa von 515 $\mu\mu$ an. Ob in dem verdunkelten Teil, etwa

bei 502 $\mu\mu$, noch ein weiterer dunkler Streifen liegt, konnte wegen ungenügender Helligkeit nicht ermittelt werden, ebenso wenig, ob in der Lage der dunkeln Teile Unterschiede zwischen den drei Bakterien vorhanden sind. Der Versuch bestätigt also einstweilen nur die große Ähnlichkeit im Farbenton.

Die Bildung von Farbstoffen durch Bakterien ist eine bekannte und verbreitete Erscheinung. Es erscheint wünschenswert, die im voraufgehenden gefundenen Tatsachen, wenn sie auch spärlich sind, mit dem, was in der Literatur über ähnliche Farbstoffe vorliegt, zu vergleichen.

Man hat versucht, nach dem Verhalten der Farbstoffe Gruppen zu bilden. Beijerinck[1]) unterscheidet chromophore Bakterien, bei denen der Farbstoff einen integrierenden Bestandteil der Zellen bildet, ähnlich dem Chlorophyll der höheren Pflanzen, chromopare Bakterien, die echten Pigmentbakterien, bei denen er als nutzloses Exkret ausgeschieden wird, und die unter bestimmten Umständen auch ohne Farbstoffbildung leben können, und parachromophore Bakterien, bei denen der Farbstoff zwar auch ein Exkret ist, aber den Zellen anhaftet. Nach dieser Einteilung würde man die vorliegenden Bakterien wohl alle drei in die erste Gruppe stellen müssen. Für die Annahme, daß der Farbstoff im Zellenleben eine wichtige Rolle spielt, etwa wie das Chlorophyll oder wie vielleicht das Bakteriopurpurin, liegt indessen einstweilen kein Grund vor. Migula[2]) teilt die Bakterien ein in solche, deren Farbstoffe sich in Wasser lösen, solche deren Farbstoffe sich nicht in Wasser aber in Alkohol und in Fettlösungsmitteln wie Äther, Benzol, Schwefelkohlenstoff usw., lösen, und solche, deren Farbstoffe sich weder in Wasser noch in Alkohol und Fettlösungsmitteln lösen. Der rote *Bacillus*, dessen Farbstoff in Wasser schwer, in Fettlösungsmitteln leicht löslich ist, muß in die zweite Gruppe gestellt werden. Durch die *Sarcina* und den *Micrococcus* erfährt die dritte Gruppe, aus der nur wenige Beispiele bekannt sind[3]), zwar eine bemerkenswerte Bereicherung, aber es scheint doch zugleich, daß die ganze Einteilung eine schematische und unnatürliche ist.

Die Farbstoffe der zweiten Gruppe Migulas gehören zum Teil zu den Lipochromen oder Fettfarbstoffen, die auch sonst im Pflanzen- und Tierreich verbreitet sind. Die Blaufärbung mit konzentrierter Schwefelsäure ist neben den Löslichkeitsverhältnissen, die übrigens im einzelnen verschieden sind, und dem Umstand, daß sie in der Regel an Fette gebunden sind, von denen sie durch Verseifen[4]) getrennt werden können,

---

[1]) Die Lebensgeschichte einer Pigmentbakterie, Bot. Zeitung IL, 725 (1891).

[2]) System der Bakterien I, 285 (1897).

[3]) Migula nennt nur *Micrococcus cereus flavus*, Farbstoff gelb, durch 10%ige kochende Kalilauge ausziehbar, und *Pseudomonas berolinensis*, Farbstoff in Salzsäure löslich, Lösung nicht haltbar.

[4]) Neumeister, Lehrbuch der physiologischen Chemie I, 69 (1893).

ein gemeinsames Merkmal derselben. Um eine Vergleichung zu ermöglichen, seien die Merkmale einiger der wichtigeren kurz angegeben.

Das Karotin, $C_{40}H_{56}$, bildet Kristalle, es ist unlöslich in Wasser, schwer löslich in Alkohol und Aceton, leichter in Petroläther, sehr leicht in Schwefelkohlenstoff. Die Kristalle werden mit konzentrierter Schwefelsäure indigoblau gefärbt. Das Spektrum zeigt Absorptionsstreifen im Blaugrün und Blau, nach Willstätter und Mieg[1]) bei 488 bis 470 und 456 bis 438 $\mu\mu$, nach Tswett[2]) bei 492 bis 475 und 460 bis 445 $\mu\mu$. Andere Beobachter machen noch andere Angaben; vielleicht haben sie verschiedene oder nicht völlig reine Substanzen untersucht. Tswett[3]) nimmt an, daß es eine Reihe Karotin-ähnlicher Stoffe gibt, die er als Karotinoide zusammenfaßt. Eine spezifische Reaktion auf Karotin ist nicht bekannt. Das Xanthophyll, $C_{40}H_{56}O_2$, ist durch andere Löslichkeitsverhältnisse und abweichende Farbe verschieden[4]).

Der rote Farbstoff des *Micrococcus rhodochrous* ist nach Zopf[5]) und Overbeck[6]) unlöslich in Wasser, löslich in Alkohol (rötlichgelb), Schwefelkohlenstoff (rosenrot), Petroläther (orangerot) usw. Er bildet mit konzentrierter Schwefelsäure blaue Kristalle. Das Spektrum zeigt ein breites Band um Linie F, zwischen 500 und 475 $\mu\mu$, und ist nach G hin breit abgeschattet. Die Farbe der Kulturen entspricht nach den Abbildungen Overbecks ziemlich denen der Klippfischbakterien. Von dem sehr ähnlichen Farbstoff des *Micrococcus erythromyxa* stellt Zopf[7]) später fest, daß er schon in den lebenden Kolonien zwischen den Zellen in Kristallgruppen ausgeschieden wird.

Mit dem Aufsehen und der Aufregung, die *Bacillus prodigiosus* seit alters hervorgerufen hat[8]), hängt es wohl zusammen, daß dieses Bakterium

[1]) Untersuchungen über das Chlorophyll. IV. Über die gelben Begleiter des Chlorophylls. Liebigs Annal. d. Chemie, Bd. 355, 1 (1907).

[2]) Physiologisch-chemische Studien über das Chlorophyll. Die Adsorptionen. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. XXIV, 321 (1906).

[3]) Über den makro- und mikrochemischen Nachweis des Karotins. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. XXIX, 632 (1911).

[4]) Willstätter und Mieg a. a. O. — Über Karotin vgl. ferner: Molisch, H., Die Kristallisation und der Nachweis des Xanthophylls (Karotins) im Blatte. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. XIV, 18 (1896). Kohl, Untersuchungen über das Karotin, 1902 (nicht gesehen). Czapek, Biochemie der Pflanzen, 2. Aufl., S. 803 (1913).

[5]) Über das mikrochemische Verhalten von Fettfarbstoffen und fettfarbstoffhaltigen Organen. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. VI, 172 (1889).

[6]) Zur Kentnnis der Fettfarbstoffproduktion bei Spaltpilzen. Nova acta LV, 399 (1891).

[7]) Über Ausscheidung von Fettfarbstoffen (Lipochromen) seitens gewisser Spaltpilze. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. IX, 22 (1891).

[8]) Vgl. Scheurlen, Geschichtliche und experimentelle Studien über den Prodigiosus. Archiv f. Hygiene XXVI, 1 (1896).

und sein Farbstoff, den Kraft[1]) Prodigiosin genannt hat, schon früh und besonders oft untersucht worden sind[2]). Der Farbstoff ist fast unlöslich in Wasser, aber löslich in Alkohol, Äther, Eisessig, Xylol, Schwefelkohlenstoff usw. Die Lösung wird durch etwas Säure in Karminrot, durch mehr in Violett, durch etwas Alkali in Gelb umgefärbt. Dabei ergeben sich etwas verschiedene Spektra, in denen aber im wesentlichen zwei Bänder, im Grün und Blaugrün, hervortreten, deren Lage nach den nicht sehr genauen Angaben von Scheurlen, Griffiths und Kraft etwa den Wellenlängen 547 bis 530 und 501 bis 475 $\mu\mu$ entspricht.

Der rote Farbstoff des oft erwähnten, von Breunig[3]) im Kieler Leitungswasser gefundenen Kieler *Bacillus* ist nach Breunig löslich in Alkohol, Chloroform und Äther, nach Schneider[4]) außerdem in Schwefelkohlenstoff und Benzol, aber unlöslich in Wasser. Er wird nach Schneider durch Zink und Essigsäure entfärbt, aber an der Luft wiederhergestellt; durch Kali wird er gelb, aber durch Salzsäure wieder rot. Das Spektrum zeigt Verdunkelung von etwa 546 bis 540 $\mu\mu$, einen schönen Absorptionsstreifen von 540 bis 528 $\mu\mu$ und Verdunkelung von 425 $\mu\mu$ an[5]). Diese Angaben finden sich auch bei Migula[6]) unter *Bacillus kiliensis*, während Flügge[7]) den Breunigschen *Bacillus B. ruber balticus* nennt und über die Löslichkeit abweichende Angaben macht, die anscheinend zum Teil auf der Arbeit von Laurent[8]) beruhen.

Bacillus subkiliensis enthält nach Petrow[9]) einen roten Farbstoff, der gleichfalls in Alkohol, Äther, Benzol usw. löslich, in Wasser unlöslich

[1]) Beiträge zur Biologie des *Bacterium prodigiosum* und zum chemischen Verhalten seines Pigmentes. Inaugural-Dissertation. Würzburg 1902 (S. 37).

[2]) Vgl. besonders: Schroeter, Über einige durch Bakterien gebildete Pigmente. Beitr. z. Biol. I, 109 (1872). — Griffiths, Sur la matière colorante du *Monas prodigiosa*. Compt. rend. CXV, 321 (1892). — Rosenberg, Beiträge zur Kenntnis der Bakterienfarbstoffe. Inaugural-Dissertation. Würzburg (1899). Nicht gesehen. — Weitere Literatur s. Scheurlen a. a. O.; vgl. auch Flügge, Mikroorganismen II, 300 (1896); Migula, System d. Bakterien II, 846.

[3]) Bakteriologische Untersuchung des Trinkwassers der Stadt Kiel. Inaug.-Diss. Kiel 1888.

[4]) Die Bedeutung der Bakterienfarbstoffe für die Unterscheidung der Arten. Arb. a. d. Bakt. Inst. d. Techn. Hochschule zu Karlsruhe, I, 211. 1894.

[5]) Diese Wellenlängen entsprechen annähernd den vom Verfasser angegebenen Zahlen 63 bis 65, 65 bis 70 und 135, die sich offenbar auf die Skala von Bunsen und Kirchhoff beziehen.

[6]) System der Bakterien II, 846 (1900).

[7]) Die Mikroorganismen II, 303 (1896).

[8]) Etude sur la variabilité du Bacille rouge de Kiel. Annales de l'Inst. Pasteur IV, 465 (1890).

[9]) Über einen neuen, roten Farbstoff bildenden Bacillus. Arb. aus d. Bakt. Inst. d. Techn. Hochschule zu Karlsruhe, herausg. v. Klein und Migula, II, Heft 3/4 (1902). Vgl. Bot. Centralbl. XC, 270 (1902).

ist. Ein breites Absorptionsband liegt zwischen 552 und 509 $\mu\mu$; es ist zwischen 546 und 513 $\mu\mu$ ganz scharf [1]). Der Farbstoff wird mit verdünnten Säuren karminrot bis violett, mit starker Salpetersäure erst gelb, dann farblos, mit Kali oder Ammoniak goldgelb, mit Säure wieder rot. Nach dem Entfärben durch naszierenden Wasserstoff stellt Sauerstoff die Farbe nicht wieder her.

Einen roten Farbstoff bildet auch *Bacillus ruber sardinae*, ein Organismus, der von du Bois Saint-Sévrin [2]) auf Ölsardinen gefunden wurde, der aber auch auf Kartoffeln gut wächst. „Er wird durch Alkali gelb, durch Säure wieder rot, ist in Alkohol, leichter in Wasser löslich, aber im übrigen kaum untersucht.

Über einen roten *Sarcina*-Farbstoff, aus *Sarcina aurantiaca*, der auch in *Staphylococcus pyogenes aureus* vorkommt, macht v. Schrötter [3]) einige kurze Angaben. Es ist ein Lipoxanthin, das mit Schwefelsäure indigoblau wird.

Die nicht roten Farbstoffe von ähnlichem Verhalten, von denen u. a. Zopf eine Anzahl beschrieben hat, mögen hier außer Betracht bleiben.

Was das Verhältnis der roten Farbstoffe der Salzbakterien zu den im voraufgehenden zusammengestellten Mikrobenfarbstoffen betrifft, so läßt sich ein abschließendes Urteil schon deshalb nicht aussprechen, weil die letzteren selbst nicht genau genug verglichen und nicht allseitig scharf unterschieden sind. Es scheint aber, daß die Farbstoffe der roten Salzbakterien mit keinem der erwähnten Farbstoffe übereinstimmen. Die Farbstoffe der *Sarcina* und des *Micrococcus* unterscheiden sich von allen andern dadurch, daß sie sich durch keines der gebräuchlichen Lösungsmittel auslösen lassen. Der Farbstoff des roten *Bacillus* ist in einer Reihe von Lösungsmitteln löslich, unterscheidet sich aber durch die Absorptionsstreifen seines Spektrums. Dem Farbstoff des *Bacillus prodigiosus* kommt er spektroskopisch am nächsten.

Sehr bemerkenswert ist der Umstand, daß es gerade einige stark kochsalzliebende oder kochsalzertragende und auch auf demselben Nährboden nebeneinander lebende Bakterien sind, welche derartig auffallende rote Farbstoffe hervorbringen. Die Frage zu beantworten, ob hier irgendeine Abhängigkeit von gemeinsamen Ursachen vorliegt, sind unsere Kenntnisse der Stoffwechselvorgänge und der Farbstoffe viel zu gering. Ob die Anwesenheit des Kochsalzes einen Einfluß auf die Farbstoffbildung hat, ließ sich nicht entscheiden, da die Bakterien bei geringerem Kochsalzgehalt überhaupt nicht wuchsen. Unter allen Umständen, wo die Bakterien

[1]) Der Verfasser gibt die Zahlen 60 und 79, 63 und 77.

[2]) Panaris des pêcheurs et microbe rouge de la sardine. Annales de l'Institut Pasteur VIII, 152 (1894).

[3]) Vorläufige Mitteilung über das Pigment von *Sarcina aurantiaca* und *Staphylococcus pyogenes aureus*. Centralbl. f. Bakt. XVIII, 781 (1895).

gut wuchsen, waren sie auch rot gefärbt, im Licht und im Finstern, bei höherer und bei niederer Temperatur, und ebenso auf den verschiedenen, allerdings bisher nur wenig zahlreichen Nährböden, auf denen es gelang, sie zur Entwicklung zu bringen. Der einzige Faktor, der, soweit die Versuche reichen, einen merklichen Einfluß auf die Ausbildung des roten Farbstoffes zu haben scheint, ist der Sauerstoff. Es wurde schon oben darauf hingewiesen, daß in den Salzschalen die unter der Tonplatte liegende Schicht farblos blieb, und daß die Entwicklung in Flüssigkeiten bei größerer Höhe der Flüssigkeit, z. B. in einer 1 bis 2 cm hohen Schicht von Fischabkochung in einem Reagenzglase, mit auffällig geringer Farbstoffbildung verknüpft war. Aber vermutlich ist dies einfach die Folge des Umstandes, daß die Bakterien bei Sauerstoffmangel nicht gut wachsen.

Bei andern Pigmentbakterien sind auffällige Schwankungen der Farbstoffbildung unter dem Einfluß äußerer Bedingungen beobachtet worden. Es berichten: Schottelius[1]), Laurent[2]), Galeotti[3]), Petrow[4]), Milburn[5]) über Farbstoffverlust bei höherer Temperatur, Ritter[6]) über das Fehlen einer Einwirkung des Lichts, Wasserzug[7]), Laurent[8]), Milburn[9]), Kuebler[10]) über den Einfluß von Säure und Alkali im Nährboden, Kuntze[11]), Samkow[12]), Sullivan[13]) über die Abhängigkeit der Farbstoffbildung von der Anwesenheit von Magnesium, Phosphor, Schwefel, Stickstoff, Woolley[14]), Ritter[15]), Delanoë[16]) über die Bedeutung und

[1]) Biologische Untersuchungen über den *Micrococcus prodigiosus*. Festschrift für Köllicker, S. 187, Leipzig 1887.

[2]) Etude sur la variabilité du Bacille rouge de Kiel. Ann. Inst. Pasteur IV, 465 (1890).

[3]) Richerche biologiche sopra alcuni batteri cromogeni. Lo Sperimentale XLVI, 261 (1892).

[4]) A. a. O.

[5]) Über Änderung der Farbe bei Pilzen und Bakterien. Centralbl. f. Bakt. 2, XIII, 129 (1904).

[6]) Versuche betreffend die Farbstoffbildung und das Wachstum einiger Sarcinen unter dem Einfluß von Lichtstrahlen verschiedener Wellenlänge und Brechbarkeit bei der Kultur auf Nährböden von variierter chemischer Zusammensetzung. Centralbl. f. Bakt. 2, XXVIII, 609 (1910).

[7]) Variations de forme chez les bactéries. Ann. de l'Inst. Pasteur II, 75 u. 153 (1888).

[8]) A. a. O.

[9]) A. a. O.

[10]) Über das Verhalten des *Micrococcus prodigiosus* in saurer Fleischbrühe. Centralbl. f. Bakt. V, 333 (1889).

[11]) Ein Beitrag zur Kenntnis der Bedingungen der Farbstoffbildung des *Bacillus prodigiosus*. Zeitschr. f. Hygiene XXXIV, 169, (1900).

[12]) Zur Physiologie des *Bacillus prodigiosus*. Centralbl. f. Bakt. 2, XI, 305 (1903).

[13]) Der Stoffwechsel farbstoffbildender Bakterien. Centralbl. f. Bakt. 2, XV, 243 (1905).

[14]) Experiments made to determine the effect of sugar upon the pigment-formation of some chromogenic bacteria. John Hopkins Bull. X, 130 (1899).

[15]) A. a. O.

[16]) Deux^e. note sur la biologie du *Bacillus prodigiosus*. Compt. rend. soc. de Biol. LX, 728 (1906).

den hemmenden Einfluß des Zuckers, Samkow[1]), Schottelius[2]) über die Notwendigkeit des Sauerstoffzutritts. Als ganz besonders günstig für die Farbstoffbildung erwiesen sich in einem Falle nach Didlake[3]) Sojabohnen, in andern Fällen nach Milburn[4]) Kartoffeln. Durch Auslese und Weiterzucht schwach gefärbter Kolonien gelang es Schottelius[5]) und Hefferan[6]), durch Einwirkung höherer Temperaturen Laurent[7]), Rassen zu erhalten, welche die Farblosigkeit beibehielten, dabei aber hinsichtlich ihrer Stoffwechselprodukte und ihrer sonstigen Eigenschaften nicht geändert wurden. Solche Rassen können in der Regel durch Änderung der Bedingungen oder durch Auslese, nach Bertarelli[8]) insbesondere auch durch Tierpassage wieder in die gefärbte Form zurückverwandelt werden.

G. Der Urheber der Klippfisch-Rotfärbung.

Nachdem durch die voraufgehenden Untersuchungen festgestellt ist, daß zum mindesten drei, vielleicht noch weitere, ganz verschiedene salzliebende Bakterienformen auf dem Klippfisch vorkommen, die in ganz ähnlicher Weise auffallend roten Farbstoff hervorbringen, ist die Frage zu beantworten, ob eine von diesen Formen für die Rotfärbung des Klippfisches ausschließlich oder vorzugsweise verantwortlich ist.

Alle drei Bakterien bringen, aus der Kultur auf Fisch übertragen, auch hier ihre rote Farbe hervor. Das beweist aber nur, daß sie auch auf dem Fisch unter Bildung roten Farbstoffs zu leben vermögen, dagegen nicht ohne weiteres, daß sie die Erreger der schädlichen Rotfärbung sind. Dies zu zeigen, wäre es vielmehr nötig, erstens die Übereinstimmung der von ihnen verursachten Erscheinungen mit der in den Betrieben vorkommenden Rotfärbung des Fisches nachzuweisen, und zweitens auf dem roten Fisch die Anwesenheit genügender Mengen der betreffenden roten Bakterienform festzustellen. Der erste Nachweis bereitet deshalb Schwierigkeiten, weil das Ergebnis einer künstlichen Impfung und einer künstlich geförderten Kultur in der Regel einen etwas abweichenden Charakter annimmt.

[1]) A. a. O.

[2]) A. a. O.

[3]) Description of a germ whose production of red pigment is limited to its cultivation upon a single medium. Centralbl. f. Bakt. 2. XV, 193 (1906).

[4]) A. a. O.

[5]) A. a. O.

[6]) A comparative and experimental study of bacilli producing red pigment. Centralbl. f. Bakt. 2. XI, 311 ff. (1904).

[7]) A. a. O.

[8]) Untersuchungen und Beobachtungen über die Biologie und Pathogenität des *Bacillus prodigiosus*. Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., XXXIV, 193 (1903).

Die erwähnten Besonderheiten der Reinkultur, die mehr brennendrote oder ins orangefarbene stechende Farbe und das klare ölige Aussehen der Kolonien des *Bacillus* auf der einen Seite, die etwas blassere, mehr rosaähnliche Farbe und das trübere oder etwas milchige Aussehen der Kolonien der *Sarcina* und des *Micrococcus* anderseits, zeigen sich auch bei der Kultur auf dem Fisch, würden aber versagen, wenn beide nebeneinander vorhanden wären.

Man wird also auf das Vorkommen der drei Bakterienformen auf dem Fisch achten müssen. Was dieses betrifft, so waren meine Untersuchungen zu der Zeit, als mir noch reichlich Fisch zur Verfügung stand, noch nicht weit genug vorgeschritten, um die Bakterien unterscheiden, trennen und leicht nachweisen zu können. Als das letztere möglich geworden war, blieben infolge der politischen Lage die Fischsendungen aus. So bin ich einstweilen nur imstande, über wenige Proben zu berichten, die ich in der letzten Zeit, als noch Fisch vorhanden war, aus Cuxhaven erhielt.

Auf einer dieser Proben, die ich im Herbst 1918 mitgebracht hatte, bestand die Rotfärbung fast ausschließlich aus kleinen isolierten blaßroten *Sarcina*-Kolonien, die sich, obgleich das Fischstück dauernd feucht blieb und in einer verschlossenen Flasche im warmen Zimmer aufbewahrt wurde, kaum ausbreiteten. Von einem Eindringen der roten Färbung in das Fleisch war nichts festzustellen; dieses nahm vielmehr nach und nach eine bräunlichgelbe Farbe an. Es hatte einen sehr scharfen üblen Geruch, zeigte aber keine besonderen Zersetzungserscheinungen, wie Verjauchung und dgl. Ohne Erfolg wurde der Versuch gemacht, durch Einwirkung von mehr Feuchtigkeit und höherer Temperatur im Thermostaten andere Vegetationen hervorzurufen sowie andere rote Bakterien, insbesondere den roten *Bacillus*, zu isolieren. In diesem Falle war also die *Sarcina* zum mindesten die wesentliche, wenn nicht die einzige Ursache der Rotfärbung des Fisches. Auch auf einer zweiten Probe, die ich im Winter 1918 erhielt, war die *Sarcina* die wesentliche Ursache, und ebenso war sie in den oben beschriebenen roten Wucherungen an der Wand der Lagerräume der vorwiegende Bestandteil (Januar 1919).

Dagegen erhielt ich den *Bacillus* aufs neue aus einer Fischprobe, die mir im Dezember 1918 vorlag, und wenn ich mich recht besinne, haben die Fische, die ich zu Beginn meiner Untersuchungen zur Verfügung hatte, und von denen der rote *Bacillus* zuerst isoliert wurde, ein anderes Aussehen gehabt und mehr schmierige glänzende rote Überzüge besessen. Daß muß ich auch schon deshalb annehmen, weil ich mich anfangs völlig bei dem Glauben beruhigt hatte, in dem *Bacillus* die Ursache der Rotfärbung gefunden zu haben. Sicher war die allererste Probe, die ich erhielt, von abweichendem Aussehen, indem das Fleisch diffus von roter Farbe durchtränkt zu sein schien.

Auf Verschiedenheiten in der Art der Rotfärbung weisen auch die Angaben der älteren Beobachter hin.

Über das Vorkommen des roten *Micrococcus* kann ich noch wenig sagen. Er scheint meist in Gesellschaft der *Sarcina* zu leben und den Kolonien dieser beigemischt zu sein. Doch ist keine gegenseitige Abhängigkeit vorhanden, da beide in Reinkultur gut wachsen und stets stark rot sind. Wenn künftig wieder reichlichere Fischsendungen zu Gebote stehen, werden sich die Fragen hinsichtlich des Vorkommens dieser drei und etwaiger weiterer roter Bakterien, auf deren Vorkommen vielleicht auch aus den mit meinen nicht ganz übereinstimmenden Befunden der älteren Beobachter geschlossen werden darf, jetzt, nachdem bestimmte Methoden für ihre Isolierung gefunden sind, leicht entscheiden lassen.

Weitere Fragen, die im Anschluß daran zu erörtern wären, sind die, inwieweit die roten Bakterien für die Zersetzungen, welche den rotgewordenen Klippfisch ekelhaft oder ungenießbar machen, allein verantwortlich sind, inwieweit andere dabei mitwirken, und welcher Art die Zersetzungen sind, die sie hervorrufen. Sicher ist, daß die roten Bakterien sich von den im Klippfisch enthaltenen organischen Stoffen ernähren und daher auch Zersetzungen derselben verursachen. Aber ebenso steht es außer Zweifel, daß neben den roten Bakterien auch andere auf dem Klippfisch nicht nur vorhanden sind, sondern auch zu leben vermögen. Beim Isolieren der roten Bakterien fanden sich wiederholt ungefärbte oder schwach gefärbte, die auf den stark kochsalzhaltigen Nährböden ebensogut gediehen wie die roten. Auch waren die erwähnten *Sarcina*-Tröpfchen auf dem letzterwähnten Fisch, wenn sie auch vorwiegend aus *Sarcina* bestanden, doch niemals völlig rein. Die übernommene Aufgabe bestand aber zunächst nur darin, die Ursache der Rotfärbung festzustellen, und es sind deshalb die andern Bakterien außer Betracht geblieben.

Hinsichtlich der praktischen Versuche zur Bekämpfung der Bakterien gilt im wesentlichen dasselbe, was am Ende des Abschnitts über *Torula* gesagt ist.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel I.

Abb. 1 bis 5. *Bacillus halobius ruber.*

Abb. 1. Teil einer Kultur auf Fischagar in einer Petrischale. Impfung der Platte durch reihenweise ausgeführte Nadelstiche. Auf einem Teil der entstandenen Kolonien gelblichgrauer Bakterien haben sich rote Kolonien des *Bacillus halobius ruber* entwickelt, die in der Photographie schwarz erscheinen und durch ihren eigentümlichen Glanz auffallen. Die Sättigung der Kultur mit Kochsalz zeigt sich an den an mehreren Stellen eingetretenen Kristallisationen des Salzes, das Alter der Kultur zugleich an den Rissen, die an den Ecken der Kristalle und in der Nähe des Schalenrandes infolge des Austrocknens des Agars entstanden sind. Vgl. Text S. 30. Vergr. $^{3}/_{2}$.

Abb. 2. In gesättigter Kochsalzlösung ausgestrichene Bazillen aus der Kultur auf einer Tonplatte. Die hellen Quadrate und Rechtecke sind die Stellen, wo sich Kristalle gebildet hatten. Vgl. Text S. 34 u. 57. Vergr. $^{370}/_{1}$.

Abb. 3. Bazillen aus einem ebenso hergestellten Präparat. Vergr. $^{750}/_{1}$.

Abb. 4. Stäbchen und längere Fäden. Ausstrich aus einer Kultur in flüssigem Nährboden. Vgl. Text S. 34 u. 57. Vergr. $^{750}/_{1}$.

Abb. 5. Veränderte Stäbchen aus einer alten Kultur auf Pferdeserum, mit gesättigter Kochsalzlösung ausgestrichen. Vgl. Text S. 34 u. 57. Vergr. $^{750}/_{1}$.

Tafel II.

Abb. 6 bis 9. *Bacillus halobius ruber.*

Abb. 6 und **7.** Veränderung der Stäbchen unter dem Einfluß von Wasser oder von verdünnterer Salzlösung, Anfangszustände: Anschwellung der Stäbchen am Ende oder in der Mitte, Knickung, Abrundung. Vgl. Text S. 36 u. 56. Vergr. $^{750}/_{1}$

Abb. 8. Durch die Einwirkung von Wasser oder verdünnterer Salzlösung stark veränderte Stäbchen: Anschwellung zu Kugeln, denen mitunter noch unveränderte Reste der Stäbchen anhaften; mehr oder weniger verquellende Kugeln. Vgl. Text S. 36 u. 56. Vergr. [illegible]/1.

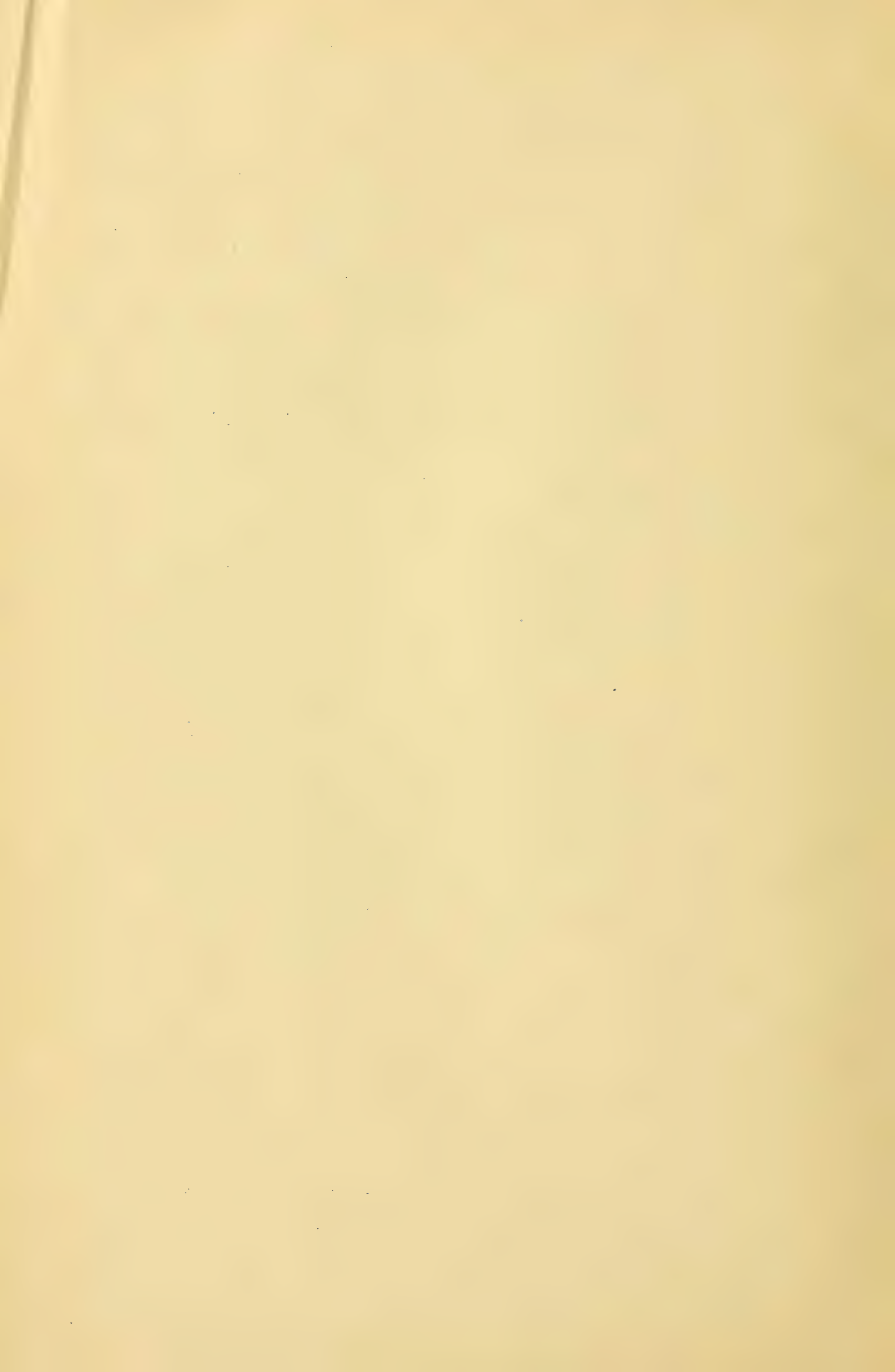
Abb. 9. Aussehen eines durch Ausstrich in reinem Wasser erhaltenen Präparats. Die durch Verquellen der Stäbchen entstandene Gallerte ist beim Trocknen zu mehr oder weniger dichten netzig-fädigen Massen eingeschrumpft, in denen sich feine Körner oder Tröpfchen finden. Vgl. Text S. 33 u. 57. Vergr. $^{540}/_{1}$.

Abb. 10. ***Sarcina morrhuae.*** Vgl. Text S. 39. Vergr. [illegible]/1.

Abb. 11. ***Micrococcus morrhuae.*** Vgl. Text S. 42. Vergr. $^{750}/_{1}$.

Eingegangen am 26. Februar 1920.

Gedruckt bei Lütcke & Wulff, E. H. Senats Buchdruckern.



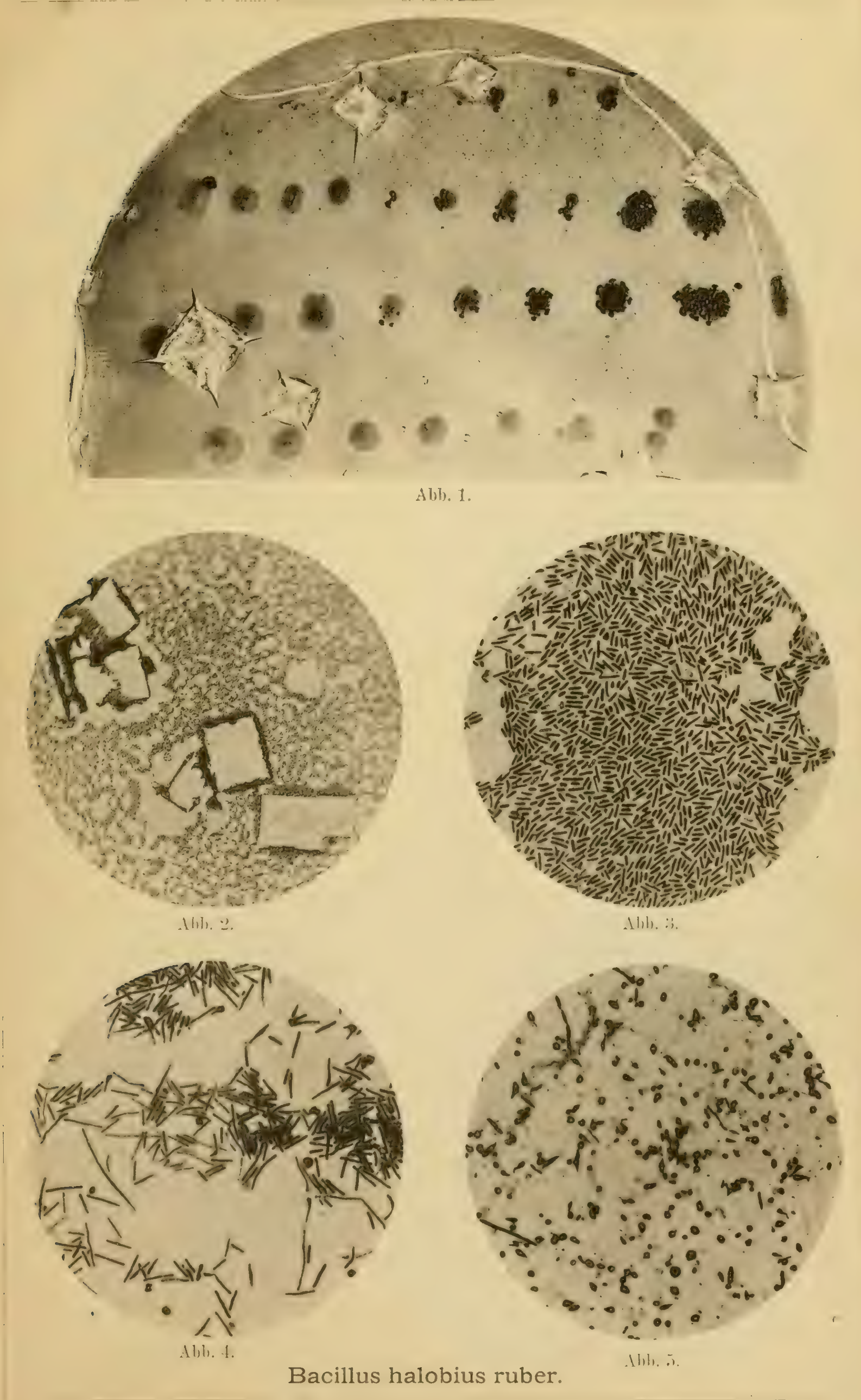


Abb. 1.

Abb. 2.

Abb. 3.

Abb. 4.

Abb. 5.

Bacillus halobius ruber.

Klebahn phot.

Lichtdr. Knackstedt & Co.



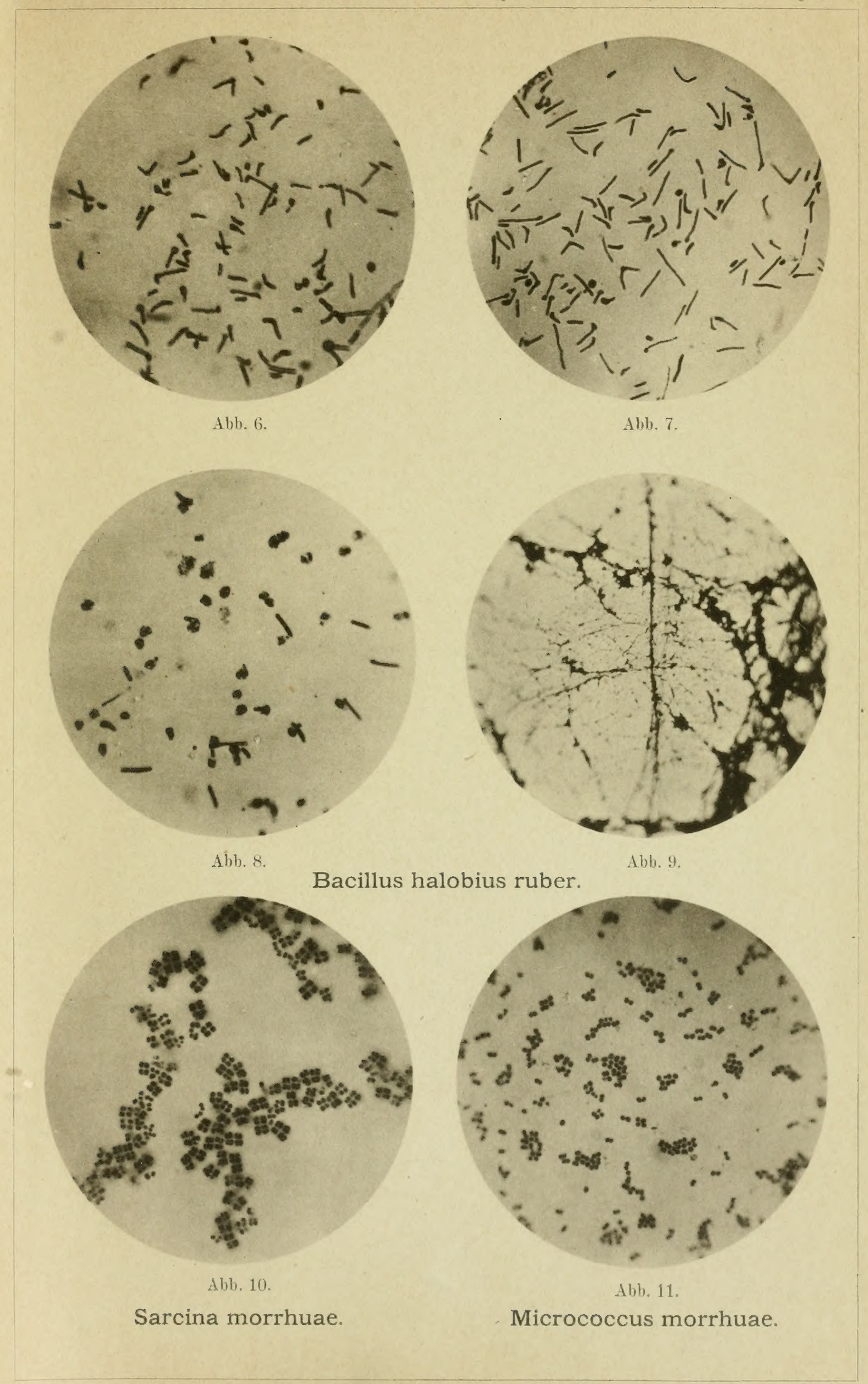


Abb. 6.

Abb. 7.

Abb. 8.

Abb. 9.

Bacillus halobius ruber.

Abb. 10.

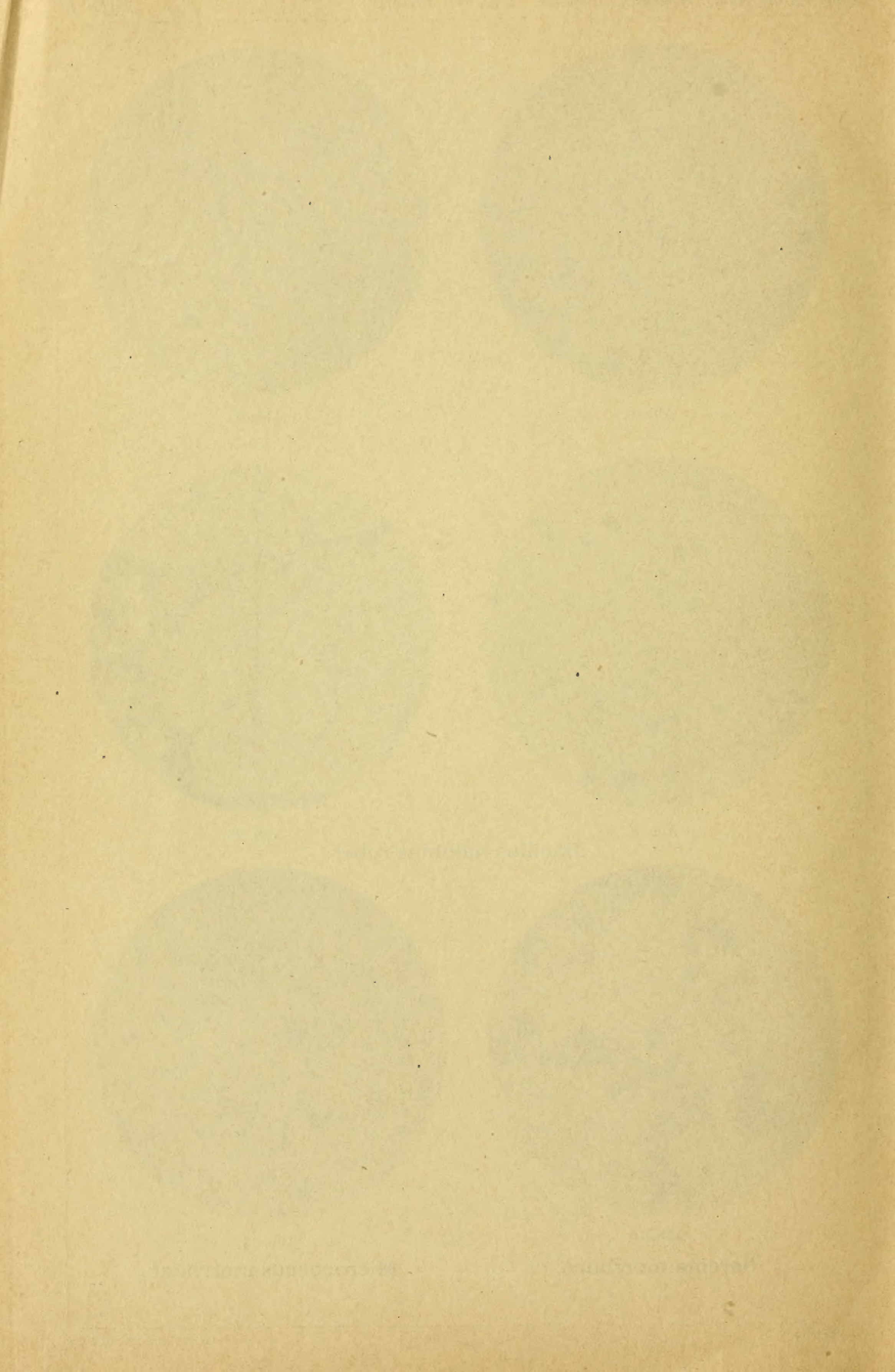
Sarcina morrhuae.

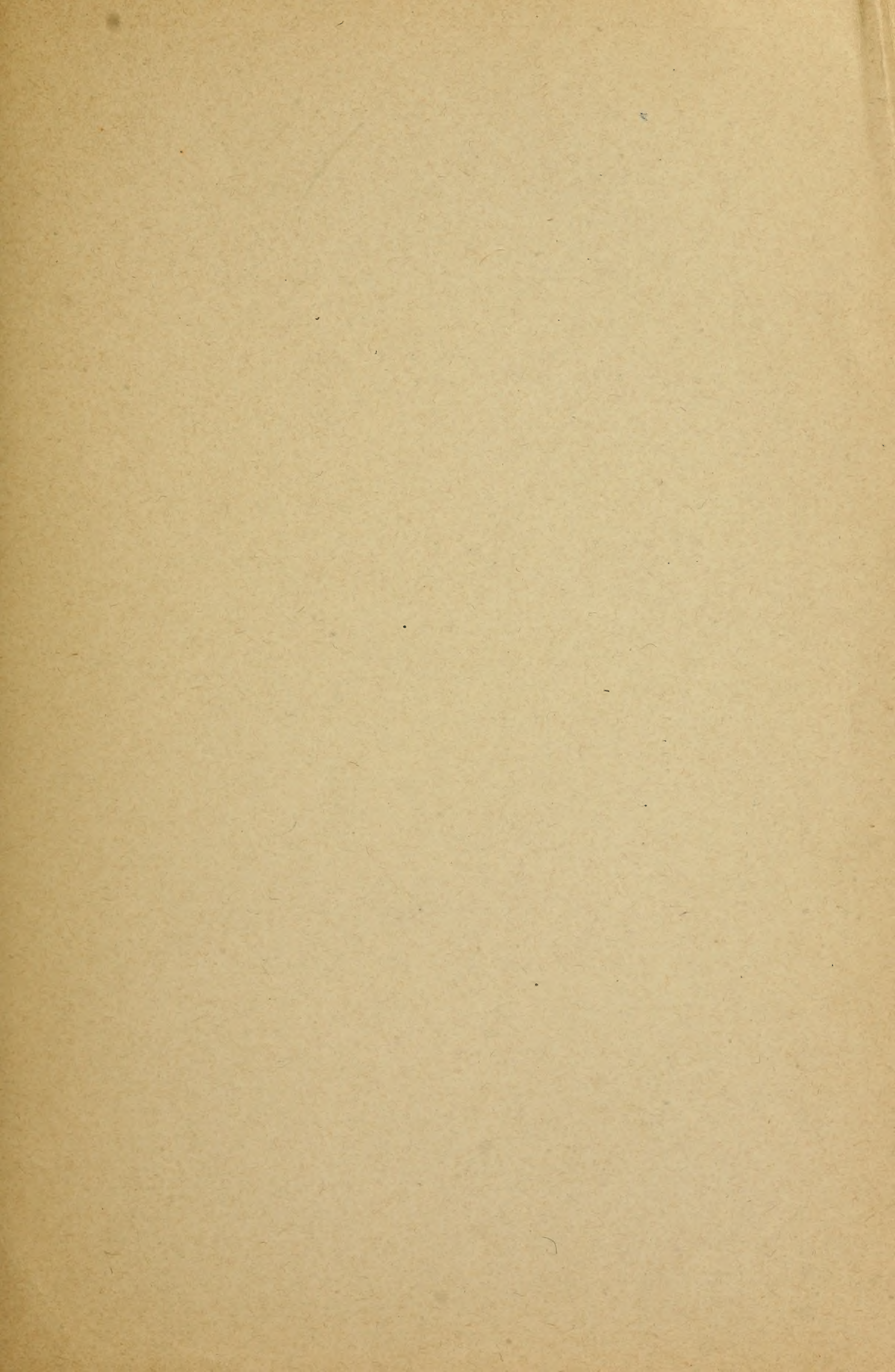
Abb. 11.

Micrococcus morrhuae.

Klebahn phot.

Lichtdr. Knackstedt & Co.







Gedruckt bei Lütcke & Wulff, E. H. Senats Buchdruckern.